DIE WIRKUNG VON CHLORPROMAZIN UND EINIGEN SEINER METABOLITEN AUF DAS EEG UND DEN STOFFWECHSEL DER BIOGENEN AMINE DES ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENHIRNS

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

des Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie

der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

Hartmut Schütz

aus Lübeck-Travemünde

Marburg 1979

DIE WIRKUNG VON CHLORPROMAZIN UND EINIGEN SEINER METABOLITEN AUF DAS EEG UND DEN STOFFWECHSEL DER BIOGENEN AMINE DES ISOLIERT PERFUNDIERTEN RATTENHIRNS

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

des Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie

der Philipps-Universität Marburg/Lahn

vorgelegt von

Hartmut Schütz

aus Lübeck-Travemünde

Marburg 1979

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Vom Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie
der Philipps-Universität Marburg/Lahn

als Dissertation angenommen am: 7.2.1979
Tag der mündlichen Prüfung : 6.2. u. 7.2.1979

Berichterstatter : Prof. Dr. Dr. J. Krieglstein
Mitberichterstatter : Prof. Dr. H. Rieger
Prof. Dr. H. Portig

Die vorliegende Arbeit entstand am Institut für Pharmakologie und Toxikologie des Fachbereichs Pharmazie und Lebensmittelchemie der Philipps-Universität Marburg auf Anregung und unter der Leitung von

Herrn Prof. Dr. Dr. J. Krieglstein.

Für seine Unterstützung und seinen hilfreichen Rat möchte ich mich an dieser Stelle herzlich bedanken.

Herrn Prof. Dr. H. Rieger danke ich für die wertvolle Unterstützung bei der Beurteilung und Auswertung der Elektroencephalogramme.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546011_0025

I N H A L T S V E R Z E I C H N I S

Seite

1. EINLEITUNG 1

2. METHODIK

2.1. Material 9

2.2. Das isolierte Rattenhirn

2.2.1. Apparatur 12

2.2.2. Präparation 13

2.2.3. Perfusionsmedien 16

2.2.4. EEG-Ableitung und -Aufzeichnung 18

2.2.5. Durchführung der Versuche 20

2.3. EEG-Auswertung

2.3.1. Amplitudenhistographie 24

2.3.2. Intervallhistographie 26

2.4. Chemisch-analytische Methoden

2.4.1. Messung von HVA im Hirngewebe 27

2.4.2. Messung von MOPEG-SO_4 im Hirngewebe 34

2.4.3. Messung der Pharmaka im Erythrozyten-Perfusionsmedium 38

2.4.4. Messung der Pharmaka im Fluorcarbon-Perfusionsmedium 40

2.5. Statistische Berechnungen

2.5.1. EEG-Meßwerte 43

2.5.2. Biochemische Meßwerte 43

3. ERGEBNISSE

3.1. Einfluß unterschiedlicher CPZ-Konzentrationen auf das EEG 44

3.2. Versuche mit CPZ und Seitenkettenmetaboliten

3.2.1. Effekte auf das EEG 45

3.2.2. Wirkung auf den HVA-Gehalt im Striatum 53

Seite

3.2.3. Effekte auf den MOPEG-SO_4-Gehalt in verschiedenen Hirnstrukturen 54
3.2.4. Metabolisierung der Pharmaka im Perfusionsmedium 56
3.2.5. Korrelation der EEG-Effekte mit den biochemischen Meßwerten 58

3.3. Versuche mit CPZ und Ringmetaboliten
3.3.1. Effekte auf das EEG 61
3.3.2. Effekte auf den HVA-Gehalt im Striatum 70
3.3.3. Wirkungen auf den MOPEG-SO_4-Gehalt in verschiedenen Hirnstrukturen 71
3.3.4. Korrelation der EEG-Effekte mit den biochemischen Meßwerten 73

3.4. Der Einfluß verschiedener CPZ-Konzentrationen im Fluorcarbon-Medium auf das EEG 75

3.5. Versuche mit CPZ und IMI sowie deren N-Oxid-Metaboliten
3.5.1. Effekte auf das EEG 75
3.5.2. Effekte auf den HVA-Gehalt im Striatum 85
3.5.3. Metabolisierung der Pharmaka im Fluorcarbon-Perfusionsmedium 86
3.5.4. Vergleich der verschiedenen Perfusionsmedien anhand der verschiedenen EEG-Parameter 90
3.5.5. Korrelation der EEG-Effekte mit den biochemischen Meßwerten 90

4. DISKUSSION 93

5. ZUSAMMENFASSUNG 111

6. LITERATUR 116

7. TABELLENANHANG 133

8. LEBENSLAUF 152

1. EINLEITUNG

Obwohl Chlorpromazin (CPZ) eine der am besten pharmakologisch untersuchten Pharmaka ist und über viele Jahre in der Behandlung schizophrener Erkrankungen angewandt wurde, sind doch die Mechanismen, die seinen klinischen Wirkungen zugrunde liegen, noch weitgehend nicht verstanden. Es ist bis heute nicht gelungen, eine Korrelation zwischen CPZ-Plasmaspiegeln und therapeutischem Erfolg herzustellen (Curry, 1971; Modestin u. Petrin, 1976; Cooper, 1978). Vor allem besteht Unklarheit darüber, warum die antipsychotische Wirkung erst 2 - 3 Wochen nach Beginn der therapeutischen Behandlung eintritt, einer Zeit, in welcher die CPZ-Plasmaspiegel niedriger sind als zu Beginn der Behandlung (Curry et al., 1970). Ebenso sind die Ursachen dafür, daß die zu Beginn der Therapie auftretende Sedation bei gleichbleibender Dosierung innerhalb der folgenden Wochen verschwindet, unbekannt (Sakalis et al., 1972).

Eine Reihe von Autoren vermuten, daß einige Metaboliten des CPZ für diese Phänomene verantwortlich sein könnten (Sakalis et al., 1973; Mackey et al., 1974). Unterstützung erhielten diese Vermutungen durch weitere Besonderheiten. Es bestehen nach CPZ-Applikation starke individuelle Unterschiede im Metabolitenmuster der Patienten (Curry, 1968; Kaul et al., 1970), zum anderen sind nach Absetzen der Medikation noch Wochen danach CPZ-Metaboliten im Harn der Patienten nachweisbar (Lacoursiere u. Spohn, 1976).

Die Metabolisierung von CPZ ist eingehend in vivo als auch in vitro untersucht worden (Green u. Forrest, 1966; Coccia u. Westerfeld, 1967). Es konnten eine Fülle von Metaboliten nachgewiesen und identifiziert werden. Die Metabolisierung umfaßt neben der Oxydation des heterocyclischen Schwefelatoms auch Hydroxylierungen an verschiedenen Stellen des Phenothiazinkerns. Weitere Veränderungen wurden vor allem an der aliphatischen Seitenkette des Phenothiazinmoleküls beobachtet: N-Oxydation, Mono- und Didesmethylierung des tertiären Stickstoffs sind die wichtigsten Metabolisierungsschritte. Die metabolische Umwandlung geschieht in verschiedenen Geweben des Organismus, insbesondere jedoch in der Leber. Im Gehirn konnte bislang keine metabolische Aktivität festgestellt werden (Minder et al., 1971).

Während die Vorgänge der Metabolisierung des CPZ durch eine Vielzahl von Untersuchungen weitgehend geklärt sind (Forrest u. Usdin, 1977), gibt es nur wenige Untersuchungen, die sich mit den pharmakologischen Eigenschaften dieser Metaboliten beschäftigen. Die Ergebnisse der Untersuchungen in vivo (Posner et al., 1962; Brune et al., 1963) und in vitro (Palmer u. Manian, 1976; Sangiah u. Domino, 1977) sind uneinheitlich, bisweilen sogar widersprüchlich. Sie machen aber deutlich, daß einige dieser Metaboliten durchaus ZNS-wirksam sind, andere hingegen nicht. Unklar ist vor allem die Einschätzung der zentralen Wirksamkeit des Chlorpromazin-N-Oxid, da dieser Metabolit im Organismus außerordentlich rasch zu CPZ und anderen Metaboliten umgewandelt wird (Wiesel u. Alfredsson, 1976).

Die unterschiedliche Einschätzung der pharmakologischen Wirkungen der CPZ-Metaboliten macht deutlich, daß es mit Hilfe von Ganztierversuchen schwierig und in besonderen Fällen gar unmöglich ist, eindeutige Aussagen über die zentralen Wirkungen von Pharmaka zu machen, da es im Organismus erneut zu einer schnellen Biotransformation des Pharmakons kommt. Zudem ist immer die Möglichkeit gegeben, daß die zentralen Wirkungen durch sekundäre periphere Einflüsse überlagert werden. In-vitro-Versuche mit Hirngewebe (Hirnschnitte, Gewebshomogenate, subzelluläre Partikel) haben hingegen den Nachteil, daß die anatomische Integrität des Gehirns zerstört wird. Die Aussagekraft dieser Untersuchungsmethode ist somit stark eingeschränkt.

Das isolierte Gehirn verbindet die Vorteile beider Untersuchungssysteme (in vitro und in vivo), ohne deren o.a. Nachteile zu besitzen:

Die anatomische Integrität des Gehirns bleibt erhalten.

Zentrale Effekte der Pharmaka werden nicht überlagert durch entstehende Metaboliten, da die großen stoffwechselaktiven Organe ausgeschaltet sind.

Zentrale Effekte können durch sekundäre periphere Reaktionen nicht beeinflußt werden.

Darüberhinaus bietet es noch eine Reihe weiterer Vorteile:

Änderungen der neuronalen Aktivität durch Pharmaka können direkt am Zielorgan als EEG aufgezeichnet und ausgewertet werden.

Es besteht die Möglichkeit, Korrelationen zwischen der elektrischen Aktivität und den biochemischen Meßwerten herzustellen.

Es existieren in der Literatur eine Fülle von Beweisen, daß Psychopharmaka verschiedene Transmittersysteme im Gehirn beeinflussen. Im Vordergrund stehen dabei die biogenen Amine Noradrenalin (NA), Dopamin (DA) und Serotonin (5-HT), deren Synthese, Speicherung und Wiederaufnahme in unterschiedlicher Weise verändert werden (Snyder et al., 1974; Schildkraut, 1965). Es wird allgemein angenommen, daß der antipsychotische Effekt des CPZ und anderer Neuroleptika auf eine Blockade von DA-Rezeptoren in bestimmten Hirnstrukturen zurückzuführen ist (Andeń et al., 1969). Durch diese Blockade, so wird vermutet, kommt es über einen Rückkopplungsmechanismus zu einer Beschleunigung des DA-Stoffwechsels, was sich in einer Erhöhung des Hauptmetaboliten des DA der Homovanillinsäure (HVA) nachweisen läßt (Carlsson, 1975). Blockade von NA-Rezeptoren würde demnach eine Erhöhung von MOPEG-SO_4, dem Hauptabbauprodukt des NA (Scharnberg et al., 1968a) zur Folge haben (Meek u. Neff, 1973). Inwieweit Neuroleptika auch NA-rezeptorblockierende Eigenschaften haben, ist noch unklar und die Literaturbefunde hierüber widersprüchlich (Keller et al., 1973; Andeń et al., 1970; Berridge u. Sharman, 1974). Der Serotoninstoffwechsel ist durch CPZ und andere Neuroleptika des Phenothiazintyps weitgehend unbeeinflußt (Laverty u. Sharman, 1964; Nose u. Takemoto, 1975; Roth et al., 1976).

Die tricyclischen Antidepressiva greifen dagegen in die synaptische Übertragung in einer anderen Weise ein. Sie hemmen die Rückaufnahme der Transmitter NA und 5-HT in die präsynaptischen Nervenendigungen. Tricyclische Antidepressiva mit sekundärer Aminstruktur beeinflussen dabei vornehmlich die Wiederaufnahme von NA (Sulser u. Sanders-Busch, 1972; Heikila, 1976). Dadurch steigt die Konzentration des Transmitters am postsynaptischen Rezeptor an. Über einen negativen Rückkopplungsmechanismus kommt es in der Folge zu einer verminderten NA-Ausschüttung in den synaptischen Spalt, was sich letztlich in einem Absinken des MOPEG-SO_4-Gehaltes bemerkbar macht (Schildkraut et al., 1976).

Legt man diese unterschiedlichen Mechanismen für Neuroleptika und Thymoleptika zugrunde, sollte es möglich sein, zwischen diesen Pharmakonklassen durch Messung der beiden Parameter HVA und MOPEG-SO_4 zu unterscheiden.

Eine zusätzliche Möglichkeit, zentral wirksame Pharmaka zu charakterisieren, besteht darin, ihre zentralen Effekte, die durch veränderte elektrische Hirnaktivität sichtbar werden, quantitativ auszuwerten.

Es ist bekannt, daß Pharmaka, welche den Wachheitsgrad von Mensch und/oder Tier verändern, auch entsprechende Veränderungen im EEG verursachen. Zentrale Stimulantien wie Amphetamin oder Hemmstoffe der Monoaminoxydase verursachen eine Vermehrung der schnellen Frequenzanteile im EEG (Desynchronisation), während Sedativa und andere zentral depressiv wirkende Pharmaka eine Erhöhung der langsamen Frequenzanteile

und somit eine generelle Verlangsamung des EEG (Synchronisation) zur Folge haben (Bradley, 1964; Meldrum, 1975). Mit Hilfe der quantitativen EEG-Analyse ist es möglich, das angebotene EEG-Datenmaterial auf wenige Meßwerte zu reduzieren und für die Pharmaka ein "EEG-Muster" zu erstellen. Anhand dieser "EEG-Muster" ist es möglich, die Pharmaka entsprechenden Pharmakonklassen (Tranquillantien, Neuro- und Thymoleptika, Barbiturate, Amphetamine) zuzuordnen und somit gegeneinander abzugrenzen (Itil, 1961; Saletu et al., 1977).

Anhand der beiden Kriterien quantitative EEG-Analyse und Veränderungen im Katecholaminstoffwechsel sollte es möglich sein, zwischen verschiedenen zentral wirksamen Pharmaka zu unterscheiden und deren Wirkungen zu charakterisieren. Das isolierte Gehirn bietet dafür die besten Voraussetzungen. Hinzu kommen die eingangs erwähnten Vorzüge des Präparates.

In einer ersten Perfusionsserie sollten die Effekte von CPZ und einiger CPZ-Metaboliten (Veränderungen an der aliphatischen Seitenkette) untersucht werden. Zudem sollte untersucht werden, ob die eingesetzten Pharmaka im Verlaufe der Perfusion chemischen oder metabolischen Veränderungen unterworfen sind.

Aus in-vivo-Versuchen mit Mäusen ist bekannt, daß nicht nur CPZ sondern auch ein Teil seiner Metaboliten DA-rezeptorblockierende Eigenschaften haben sollen (Dailey et al., 1972). In anderen in-vivo- und in-vitro-Testmodellen zeigen sie ebenfalls Wirksamkeit (Miller u. Iversen, 1974; Nybäck u. Sedvall, 1972). In allen durchgeführten Untersuchungen haben sich die

Metaboliten jedoch als weniger wirksam erwiesen als die Muttersubstanz selbst. Ob und in welcher Weise diese Metaboliten NA-Rezeptoren beeinflussen, darüber liegen bisher keine Untersuchungen vor. Aus Untersuchungen von Bickel u. Brodie (1964) ist jedoch bekannt, daß gerade Veränderungen an der aliphatischen Seitenkette die pharmakologischen Eigenschaften tricyclischer Psychopharmaka wesentlich verändern können. Die desmethylierten Verbindungen zeigen oftmals weniger stark sedierende Eigenschaften als die Ausgangsverbindungen, was auf eine Beeinflussung noradrenerger Neurone zurückgeführt werden könnte.

Da diese Versuche sehr interessante und z.T. überraschende Ergebnisse aufzeigten, wurden in einer weiteren Perfusionsserie neben CPZ noch andere Metaboliten (Veränderungen am Phenothiazinringsystem) einer Prüfung unterzogen. Insbesondere sollte untersucht werden, inwieweit diese Substanzen in den NA-Stoffwechsel einzelner Hirnstrukturen eingreifen. Hierüber existieren in der Literatur bislang keine Befunde.

Angesichts der Ergebnisse der durchgeführten Untersuchungen schien es interessant und auch notwendig, das Problem der Wirksamkeit der N-Oxid-Metaboliten von Psychopharmaka nochmals gesondert aufzugreifen. Die Schwierigkeiten, die Wirksamkeit dieser Verbindungen eindeutig nachzuweisen, resultiert aus der großen Labilität dieser Substanzen im Organismus (Wiesel u. Alfredsson, 1976; Nagy, 1978). Dabei findet die metabolische Umwandlung nicht nur in den großen Stoffwechselorganen des Organismus statt, sondern schon im Blut

kann eine weitgehende Reduktion dieser Verbindungen stattfinden (Mitchard, 1971; Bickel, 1969). Um derartige Reaktionen auszuschließen, wurde das bisher verwendete, erythrozytenhaltige Perfusionsmedium durch ein synthetisches, erythrozytenfreies Perfusionsmedium ersetzt, welches in unserem Laboratorium seit geraumer Zeit zur Perfusion der isolierten Gehirne eingesetzt wurde (Dirks et al., 1979). Diese Maßnahme eröffnete zugleich die Möglichkeit, die Eigenschaften der beiden Medien zu vergleichen. In dieser Studie wurden die Effekte von CPZ und Imipramin, einem Neuro- und einem Thymoleptikum, sowie deren N-Oxid-Metaboliten CPZ-NO und Imipramin-NO untersucht.

2. METHODIK

2.1. Materialien

Bei den Untersuchungen wurden folgende Substanzen verwendet:

Chlorpromazin (CPZ) [2-Chlor-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin-hydrochlorid, Megaphen ^{R} ; Bayer, Leverkusen],

Monodesmethyl-chlorpromazin (NOR_1-CPZ) [2-Chlor-10-(3'-methylamino-propyl)-phenothiazin-hydrochlorid; Rhone-Poulenc, Paris],

Didesmethyl-chlorpromazin (NOR_2-CPZ) [2-Chlor-10-aminopropyl-phenothiazin-maleat; Rhone-Poulenc, Paris],

Chlorpromazin-sulfoxid (CPZ-SO) [2-Chlor-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin-5-oxid; Rhone-Poulenc, Paris],

Chlorpromazin-N-oxid (CPZ-NO) [2-Chlor-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin-N-oxid-maleat; Rhone-Poulenc, Paris],

Monodesmethyl-chlorpromazin-sulfoxid (NOR_1-CPZ-SO) [2-Chlor-10-(3'-methylamino-propyl)-phenothiazin-5-oxid; Rhone-Poulenc, Paris],

Didesmethyl-chlorpromazin-sulfoxid (NOR_2-CPZ-SO) [2-Chlor-10-aminopropyl-phenothiazin-5-oxid; Rhone-Poulenc, Paris],

Chlorpromazin-N-oxid-sulfoxid (CPZ-NO-SO) [2-Chlor-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin-N-oxid-5-oxid-monohydrat; Rhone-Poulenc, Paris],

7-Hydroxy-chlorpromazin (7-OH-CPZ) [2-Chlor-7-hydroxy-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin; A.A. Manian, N.I.H., Bethesda, USA],

8-Hydroxy-chlorpromazin (8-OH-CPZ) [2-Chlor-8-hydroxy-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin; A.A. Manian, N.I.H., Bethesda, USA],

3,7-Dihydroxy-chlorpromazin (3,7-diOH-CPZ) [2-Chlor-3-hydroxy-7-hydroxy-10-(3'-dimethylamino-propyl)-phenothiazin; A.A. Manian, N.I.H., Bethesda, USA],

7-Hydroxy-monodesmethyl-chlorpromazin (7-OH-NOR_1-CPZ) [2-Chlor-7-hydroxy-10-(3'-methylamino-propyl)-phenothiazin; A.A. Manian, N.I.H., Bethesda, USA],

Imipramin (IMI) [N-(3'-Dimethylamino-propyl)-iminodibenzyl-hydrochlorid; Tofranil ^{R}, Geigy, Basel],

Imipramanin-N-oxid (IMI-NO) [N-(3'-Dimethylamino-propyl)-iminodibenzyl-N-oxid; Geigy, Basel],

Urethan [Äthylcarbamat; Merck, Darmstadt],

Rinderserumalbumin [trocken, rein; Behring-Werke, Marburg],

Homovanillinsäure (HVA) [4-Hydroxy-3-methoxy-phenylessig-säure, purissimum; Karl-Roth, Karlsruhe],

4-Hydroxy-3-methoxy-phenyläthylenglycol-sulphat (MOPEG-SO_4) [Hoffmann la Roche, Basel],

Tris-(hydroxymethyl)-amino-methan, ultrapure (TRIS) [Aldrich Chemical Company, Inc., England],

Sephadex G 10 (40-120 µm); [Pharmazia Uppsala, Schweden],

Sephadex DEAE 25 (40-120 µm); [Pharmazia Uppsala, Schweden],

Amberlite XAD-2 (300-1000 µm), ungereinigt; [Serva, Heidelberg],

Fluorcarbon FC 43 [Tributyl-perfluoro-amin, Fluorinert ^{R}; 3M Company, Saint Paul, Minnesota, USA],

Pluronic ^{R} F 68 [Hochmolekulares Blockpolymer aus Äthylen-oxid und Propylenoxid, Mol-Gewicht: ca. 8000; C.H. Erbslöh, Düsseldorf].

Alle weiteren verwendeten Chemikalien hatten "pro analysi" Qualität.

Alle Untersuchungen wurden an männlichen Sprague-Dawley-Ratten (180 - 250 g) durchgeführt. Bis zum Beginn der Experimente hatten die Tiere freien Zutritt zu Standard-Futter (Altromin ^{R}) und Leitungswasser.

2.2. Das isolierte Rattenhirn

2.2.1. Apparatur

Als Apparatur zur Perfusion des isolierten Rattenhirns wurde die von Fleck et al.(1972) beschriebene Apparatur I verwendet (Abbildung 1). Sie besteht aus einem Pumpsystem, welches die Herzfunktion, und einem Oxygenator, welcher die Lungenfunktion übernimmt. Die Apparatur besteht weitgehend aus Glasteilen, welche durch Latexschlauch miteinander verbunden sind. Als Oxygenator wird ein ca. 30 cm langer Kugelkühler verwendet, dessen Mantel von 37 ^{o}C warmen Wasser durchspült wird. Das Perfusionsmedium wird durch einen rotierenden Trichterauslauf in dünner Schicht auf der Kühlerwandung verteilt und mit von unten entgegenströmendem Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2) begast. Das oxygenierte Perfusionsmedium sammelt sich in einem 250 ml Rundkolben, welcher in ein 37 ^{o}C warmes Wasserbad eintaucht. Eine Kolbenpumpe im Zusammenspiel mit einem Glasventil fördert das oxygenierte und temperierte Medium vom tiefsten Punkt des Vorratsgefäßes in einem pulsierenden Strom in Richtung Rattenhirn. Dabei passiert es noch ein dazwischengeschaltetes G-2-Filter (Ø 30 mm, 4 mm dick). Oberhalb des Filters zeigt ein in den Kreislauf hineinragendes Thermometer die Temperatur des Mediums an. In Höhe des Thermometers zweigt eine Kurzschlußverbindung zum Oxygenator ab. In diese ist ein Druckregulierungsmechanismus in Form eines Starlingschen Widerstandes zwischengeschaltet. Mit Hilfe dieses Widerstandes ist es möglich, den Druck in

dem zum Rattenhirn führenden Leitungssystem auf einen bestimmten Wert einzustellen und über die Dauer der Perfusion konstant zu halten (100 - 120 mm Hg). Zwei dünne, an ihrem Ausgang sich verjüngende PVC-Schläuche stellen dann die flexible Verbindung zum Rattenhirn her. Nach Passage des isolierten Gehirns gelangt das Medium wieder über den Oxygenator zum Sammelgefäß zurück. Damit ist der Kreislauf geschlossen.

2.2.2. Präparation

Die Präparation wurde in Urethannarkose (1,2 g/kg i.p.) in der von Andjus et al. (1967) beschriebenen Weise durchgeführt.

Auf einem Präparationstisch wurde der Rattenschädel fest fixiert, um ein Abrutschen der Elektroden zu verhindern und ein ruhiges Präparieren zu gewährleisten. Mit einem ersten Schnitt wurde das Fell in der Halsregion entfernt, die Trachea freigelegt und mit einem 3-4 cm langen PVC-Schlauch intubiert. Die weitere Präparation hatte zum Ziel, alle großen von der A. carotis communis bzw. interna abzweigenden nicht ins Gehirn führenden Gefäße zu unterbinden (Abb. 1).

Dazu wurde die A. carotis communis und die Karotisgabel freipräpariert und die A. carotis externa unterhalb des Abgangs der A. occipitalis unterbunden. Dem Verlauf der A. carotis interna folgend wurde die A. pterygopalatina aufgesucht.

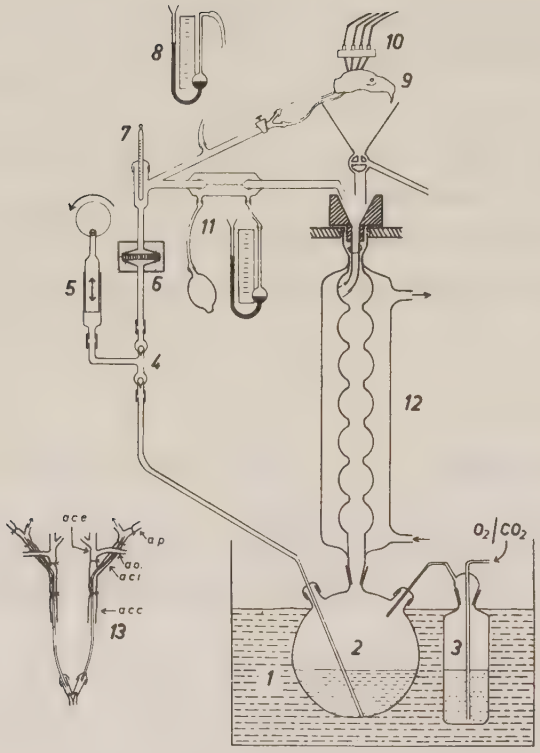


Abbildung 1 : Perfusionsapparatur I (Fleck et al., 1972)

1	Wasserbad
2	Vorratsgefäß für das Perfusionsmedium
3	Waschflasche für Carbogen mit physiologischer Kochsalzlösung
4 und 5	Pumpe mit Ventil
6	Filter (G 2)
7	Thermometer
8	Manometer zur Kontrolle des Perfusionsdruckes
9	Rattenschädel
10	Elektroden zur EEG-Ableitung
11	Starlingwiderstand mit Manometer
12	Oxygenator
13	Schematische Darstellung der Gefäße mit eingebundenen Kathetern: a.c.c.= arteria carotis communis; a.c.i. = arteria carotis interna; a.c.e. = arteria carotis externa; a.o. = arteria occipitalis; a.p. = arteria pterygopalatina.

Diese entspringt aus der A. carotis interna kurz bevor diese in den Schädel eintritt. Nach Injektion von 25 mg/kg Heparin (Roche) in eine Vena jugularis externa wurde die A. pterygopalatina abgebunden.

Auf beiden Seiten wurden nun die Ligaturen zum Einbinden der Perfusionskatheter vorbereitet. Die Aa. carotides communes wurden proximal abgeklemmt und distal unterbunden, die Gefäßwand eingeschnitten und die Perfusionskatheter möglichst bis in die A. carotis interna vorgeschoben und fixiert.

Während dieser Zeit ist das Gehirn über die beiden Aa. vertebrales ausreichend mit Blut versorgt. Unmittelbar nach Beginn der Perfusion wurden die Vv. jugulares externae durchgetrennt, um ein Abfließen des Perfusionsmediums zu ermöglichen. In diesem kritischen Präparationsstadium wurde das Gehirn sowohl von körpereigenem (über die Aa. vertebrales) als auch von Perfusionsmedium (über die Aa. carotides communes) durchströmt.

Nach Unterbrechung der körpereigenen Blutversorgung durch eine Ligatur in Höhe des 3. - 4. Halswirbels wird der Rattenkörper mit einem kräftigem Schnitt unterhalb der Ligatur vom Kopf getrennt. Die Perfusionszeit wurde ab dem Zeitpunkt der Dekapitation gerechnet.

Das fertige Präparat bestand aus dem Schädel, den 3 - 4 oberen Halswirbeln und Muskelresten, deren Perfusion durch die verschiedenen Ligaturen ausgeschaltet war.

2.2.3. Perfusionsmedien

Im Verlaufe der Untersuchungen dieser Arbeit kamen zwei unterschiedliche Perfusionsmedien zur Anwendung. Zum einen eine Suspension von Rindererythrozyten in einer Albumin-Elektrolytlösung, zum anderen eine Emulsion aus Fluorkohlenwasserstoff FC 43 und einer Emulgator (Pluronic ^{R} F 68)-Elektrolytlösung.

Bereitung des rindererythrozytenhaltigen Mediums

Frisches Rinderblut wurde noch im Schlachthof mit isotoner Natriumcitrat-Lösung, welche 10 g/l Glucose enthielt, verdünnt und im Kühlschrank bei 4 ^{o}C nicht länger als 72 Stunden aufbewahrt. Zur Gewinnung der Erythrozyten wurde das Rindercitratblut durch Zentrifugieren vom Plasma befreit, die sedimentierten Erythrozyten zweimal mit 1 % Kochsalzlösung und abschließend einmal mit Krebs-Henseleit-Glucose-Lösung gewaschen. Die sedimentierten Erythrozyten wurden zur Bereitung des Perfusionsmediums verwendet.

Für einen Perfusionsversuch wurden 100 ml Medium bereitet. Dazu wurden 40 ml gepackte und gewaschene Erythrozyten, 2 g Rinderserumalbumin und 400 mg Glucose mit Krebs-Henseleit-Lösung auf 100 ml aufgefüllt.

Der Hämatokrit des fertigen Mediums wurde mit einer Mikrohämatokrit-Zentrifuge (Heraeus-Christ, Osterode) bestimmt und lag zwischen 29 und 30 %.

Herstellung des Fluorcarbon-Perfusionsmediums

Die Bereitung des Fluorcarbon-Mediums erfolgte nach dem von Dirks et al. (1979) ausgearbeiteten Verfahren.

Das Fluorcarbon-Medium (FC-Medium) stellt eine stabile Emulsion aus dem Fluorkohlenwasserstoff FC 43 und einer Krebs-Henseleit-Glucose-Lösung dar. Zur Erhaltung einer stabilen Emulsion ist es notwendig, einen Emulgator in ausreichender Konzentration zuzugeben. Während das FC 43 ohne weitere Reinigung zur Herstellung der Emulsion eingesetzt werden konnte, mußte das Pluronic^{R} F68 einer ausgiebigen Reinigung unterworfen werden.

Zu diesem Zweck wurde eine 10%ige wäßrige Lösung hergestellt und nicht lösliche Partikel abfiltriert (Sartorius Membran, 0,2 µm Porenweite). Die anderen löslichen Verunreinigungen mit einem Molekulargewicht unter 1000, insbesondere das industriell zugesetzte Antioxidans Jonol ^{R}, wurden mit Hilfe der Diafiltration entfernt (Millipore PSAC Membranen; Millipore Comp., Neu Isenburg). Nach der Diafiltration wurde die gereinigte Pluroniclösung nochmals durch ein Membranfilter (0,2 µm Porenweite) gepreßt.

Zur Herstellung von 1000 ml des Perfusionsmediums wurden 528 g gereinigte Pluroniclösung mit CO_2-Gas gesättigt, 200 ml FC 43 zugefügt und diese Mischung mit einem Ultraturrax eine Minute lang voremulgiert. Diese Rohemulsion wurde anschließend 100 Minuten mit einer Leistung von 100 Watt bei 20 KHz beschallt (Branson B 12 Sonifier, 1/2 inch Beschallungsrüssel).

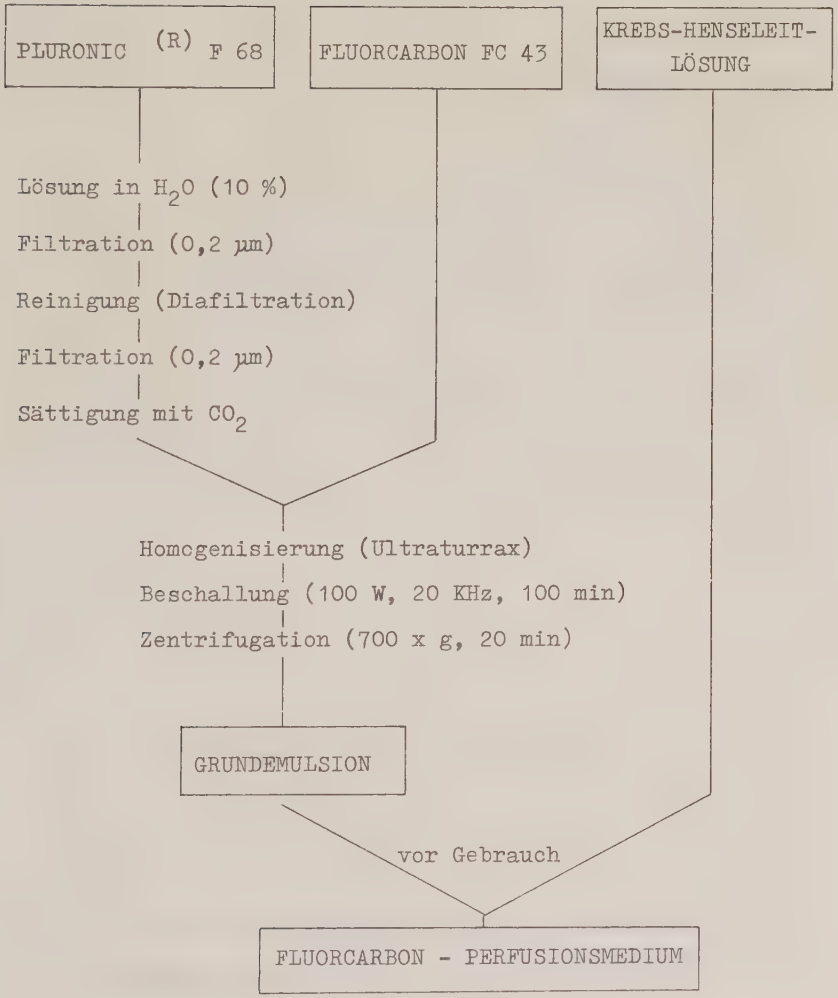
Dazu wurde die in einen gekühlten Vorratskolben gegebene Rohemulsion kontinuierlich rezirkulierend durch ein gekühltes 80 ml fassendes Beschallungsgefäß gepumpt. Die nach 100 Minuten Beschallungszeit entstandene Grundemulsion wurde zentrifugiert (20 min bei 700 x g), um größere Partikel der Emulsion sowie kleine Metallstückchen, die sich vom Beschallungsrüssel gelöst hatten, zu entfernen. Der Überstand wurde abgegossen und bis zum Gebrauch im Kühlschrank aufbewahrt. Die auf diese Weise hergestellte Grundemulsion war bläulich durchscheinend und hatte eine durchschnittliche Partikelgröße unter 0,2 µm.

Unmittelbar vor Gebrauch wurden 90,2 g der Grundemulsion mit Glukose und Elektrolyten versetzt. Das gebrauchsfertige Perfusionsmedium bestand schließlich aus 280 mg Glukose, 4,8 g Pluronic^{R}F 68 und 20 ml FC 43 in 100 ml Krebs-Henseleit-Lösung. Die einzelnen Arbeitsgänge der Mediumbereitung sind in Abbildung 2 nochmals als Blockdiagramm dargestellt.

2.2.4. EEG-Ableitung und -Aufzeichnung.

Durch Entfernen von Fell, Unterhautgewebe und Periost wurde das Schädeldach freigelegt. Am frontalen und occipitalen Ende des Scheitelbeins wurden mit einem Zahnbohrer flache Mulden in den Knochen gebohrt, um ein Abrutschen der Elektrodenspitzen zu verhindern. Vor dem Aufsetzen der Elektroden wurde zur Verbesserung der Leitfähigkeit etwas Elektrodenpaste in die Vertiefungen gegeben. Die Ableitungen

Abbildung 2 : Herstellung des Fluorcarbon-Perfusionsmediums nach Dirks et al. (1979).



erfolgten bipolar (Potentialdifferenzen zwischen frontalen und occipitalen Elektroden) von beiden Gehirnhälften.

Das EEG konnte während des Versuchs auf einem Oszilloskop (Hellige HE 19 Einheit mit Vorverstärker EE und Kardioskop; Fa. Hellige, Freiburg) betrachtet und zu verschiedenen Zeiten auf Papier und Magnetband (EPI 2; Compagnie de Compteurs Schlumberger, Villacoublay, Paris) aufgezeichnet werden.

Die Magnetaufzeichnungen für die quantitative EEG-Auswertung erfolgten jeweils von 6-10, 16-20 und 26-30 Minuten nach Beginn der Perfusion mit einer Bandgeschwindigkeit von 9,5 cm/sec. Versuche mit dem Fluorcarbon-Perfusionsmedium erfolgten über eine Perfusionszeit von 60 Minuten. Bei diesen Experimenten wurden Aufzeichnungszeiten von 8-10, 18-20, 28-30 und 58-60 Minuten festgelegt. Vor jedem Versuch wurden 100 µV Eichsignale (Spitze/Spitze) auf das Magnetband mitaufgezeichnet.

2.2.5. Durchführung der Versuche

Mit den Perfusionsversuchen sollten die Wirkungen von Psychopharmaka insbesondere die des CPZ und eine Reihe seiner Metaboliten auf das EEG und den Katecholaminstoffwechsel in bestimmten Hirnstrukturen untersucht werden. Da für diese Untersuchungen z.T. nur sehr geringe Substanzmengen zur Verfügung standen, wurden von jeder Substanz eine Stammlösung in einer Konzentration von 500 µM hergestellt. Hiervon wurden jeweils 2.0 ml in Ampullen gefüllt, die Ampullen unter Stickstoffbegasung zugeschmolzen.

Als Basen vorliegende Phenothiazine wurden unter Zugabe von 0,1 N HCl gelöst, mit 0,5 M Na_2HPO_4-Lösung auf pH 7,2 eingestellt. Die Ampullen wurden bei -20 °C aufbewahrt, bei Gebrauch aufgetaut und unmittelbar vor Versuchsbeginn dem Perfusionsmedium zugesetzt.

Das jeweils gewählte Medium rezirkulierte vor Beginn der Perfusion 45-75 Minuten in der Apparatur und wurde mit Carbogen (95 % O_2, 5 % CO_2) begast, so daß sich ein pH-Wert von annähernd 7,4 einstellte.

Alle Perfusionsversuche wurden in einem abgedunkelten Raum durchgeführt, da Phenothiazine sehr lichtempfindlich sind.

In orientierenden Versuchen wurde zunächst diejenige CPZ-Konzentration ermittelt, bei der unter Einwirkung dieses Pharmakons visuell deutliche EEG-Veränderungen zu erkennen waren. Die isolierten Gehirne wurden mit 5, 10, 50 und 100 µM CPZ perfundiert. Die Perfusionszeit betrug 60 min. Aufgrund dieser Versuche wurden in einer ersten Perfusionsserie CPZ und seine Metaboliten NOR_1-CPZ, NOR_2-CPZ und CPZ-NO (Seitenkettenmetaboliten) in einer Konzentration von 10 µM im Perfusionsmedium untersucht. Kontrollperfusionen wurden ohne Zusatz eines Pharmakons zum Perfusionsmedium durchgeführt. Die Perfusionszeit wurde auf 30 min festgelegt. Der Hämatokrit der Medien betrug 29,8 ± 1,6 (n=35). Die mittleren Durchflußraten (15 min nach Perfusionsbeginn) betrugen bei Kontrollperfusionen 4,8 ± 1,0 ml/min (n=11), bei Perfusionen mit CPZ 3,9 ± 0,9 ml/min (n=9), mit CPZ-NO 3,9 ± 0,8 ml/min (n=7), mit NOR_1-CPZ 4,4 ± 0,9 ml/min (n=9) und mit NOR_2-CPZ 4,4 ± 0,4 (n=8).

In einer zusätzlichen Serie (n=4) wurde das Ausmaß der Zersetzung des CPZ-NO im Perfusionsmedium untersucht.

CPZ und eine Reihe anderer Metaboliten (Veränderungen am Phenothiazinringsystem) wurden in einer weiteren Perfusionsserie auf zentrale Wirksamkeit geprüft. In orientierenden Versuchen wurden zunächst folgende Metaboliten in einer Konzentration von 10 µM im Perfusionsmedium untersucht: 7-OH-CPZ, 8-OH-CPZ, 3,7-diOH-CPZ, 7-OH-NOR_1-CPZ und CPZ-SO (Ringmetaboliten). Mit jeder Substanz wurden 2-4 Perfusionsexperimente mit einer Dauer von 60 Minuten durchgeführt.

In abschließenden Experimenten wurden Perfusionsreihen mit CPZ, 7-OH-CPZ, CPZ-SO sowie Kontrollperfusionen durchgeführt. Die Konzentration der Pharmaka im Medium und die Perfusionszeiten wurden gegenüber der ersten Perfusionsserie nicht verändert. Der Hämatokrit der Medien betrug 29,1 ± 1,2 (n=28). Die mittleren Durchflußraten (ml/min) betrugen nach einer Perfusionszeit von 15 min: Bei Kontrollperfusionen 4,6 ± 0,6 (n=7), bei Perfusionen mit CPZ 4,6 ± 0,6 (n=7), mit 7-OH-CPZ 4,3 ± 0,8 (n=7) und mit CPZ-SO 4,7 ± 0,7 (n=7).

In einer weiteren Untersuchung wurde zur Perfusion der isolierten Gehirne synthetisches Fluorcarbon-Medium eingesetzt. Nach orientierenden Versuchen mit variierenden CPZ-Dosierungen wurde die Konzentration im Medium für die folgenden Experimente auf 5 µM festgelegt. Untersucht wurden die beiden Substanzpaare CPZ, CPZ-NO und IMI, IMI-NO. Es wurden vier Versuchsreihen mit Pharmaka und eine Kontrollreihe mit jeweils 7 Versuchen durchgeführt. Die Perfusionszeit betrug bei diesen Versuchen 60 Minuten.

Die mittleren Durchflußraten waren gegenüber den bisherigen mit Erythrozyten-Medien durchgeführten Perfusionsversuchen erniedrigt und betrugen nach einer Perfusionszeit von 15 Minuten bei den Kontrollperfusionen 2,8 ± 0,4 ml/min (n=7), bei Perfusionen mit CPZ 3,1 ± 0,2 ml/min (n=7), mit CPZ-NO 3,2 ± 0,7 ml/min (n=7), mit IMI 2,6 ± 0,4 ml/min und mit IMI-NO 3,2 ± 0,4 ml/min.

Zur quantitativen Bestimmung der Pharmaka im Medium wurden zusätzliche Versuche mit einer Konzentration von 10 uM durchgeführt (n=4).

Nach Beendigung der Perfusionen wurden die Gehirne möglichst schnell aus der Schädelkapsel herausgenommen und auf einer eisgekühlten Glasplatte in einzelne Hirnstrukturen zerlegt (Glowinski u. Iversen, 1966). Die Strukturen wurden in flüssigem Stickstoff oder bei -80 ^{o}C gelagert. Zu jeder Perfusionsserie wurde eine in-vivo-Kontrollreihe durchgeführt. Dazu wurden unbehandelte Tiere dekapitiert. Die weitere Aufarbeitung und Lagerung erfolgte wie bei den perfundierten Gehirnen angegeben.

In den Gehirnen der 1. Perfusionsserie wurde der HVA-Gehalt im Striatum, der MOPEG-SO_4-Gehalt im Kortex und im verbleibenden Rest des Gehirns gemessen. In der 2. Serie wurde wiederum der HVA-Gehalt im Striatum bestimmt. MOPEG-SO_4 wurde im Hypothalamus, Mittelhirn und Medulla oblongata gemessen. Bei den mit Fluorcarbon-Medium durchgeführten Versuchen wurde nur der HVA-Gehalt im Striatum bestimmt.

2.3. EEG-Auswertung

Die visuelle sowie die automatische EEG-Analyse wurde in Zusammenarbeit mit Herrn Professor Dr. Rieger in der Neuropsychiatrischen Klinik der Universität Mainz durchgeführt.

Die auf Magnetband gespeicherten EEG-Perioden wurden zur visuellen Begutachtung auf Registrierpapier wiedergegeben. Eine visuelle Beurteilung des EEG ist vor der automatischen Analyse erforderlich, um gegebenenfalls artefakthaltige Kurvenanteile zu eliminieren. Sie bietet ferner die Möglichkeit, neben dem automatisch genauer zu erfassenden Amplituden- und Frequenzverhalten des EEG auch spezielle Wellenformen und flüchtige Phänomene zu beschreiben, die mit den verwendeten automatischen Methoden nicht erfaßt werden.

Zur quantitativen Beschreibung der EEG-Eigenschaften wurde die Amplituden- und Intervallhistographie durchgeführt. Zur Auswertung wurde das Biosignal-Analysegerät NICOLET 1070 N mit den Einschüben für Amplituden- und Intervallhistographie benutzt, welches an einen programmierbaren Tischrechner direkt angeschlossen war (Hewlett-Packard, HP 9825 A).

2.3.1. Amplitudenhistographie

Die Gewinnung von Amplitudenhistogrammen entspricht den von Saunders (1963) dargelegten Prinzipien. Dazu wurden artefaktfreie EEG-Fragmente bestimmter Länge ausgewertet. Die Amplitude wurde alle 4 msec abgetastet (bei der

1. Perfusionsserie 0,2 msec), so daß pro EEG-Fragment 2 x 10^5 Meßwerte erhalten wurden. Diese wurden nach Analog-Digitalwandlung automatisch in 25 (bei der 1. Perfusionsserie in 10) Amplitudenklassen eingeteilt und die Klassenhäufigkeit in Form eines Histogramms dargestellt. Das erhaltene Histogramm gibt die statistischen Verteilungseigenschaften der EEG-Amplituden wieder.

Abweichungen von der Normalverteilung können unter dem Einfluß von Pharmaka vorkommen. Die Verteilungsparameter wurden durch Berechnung höherer Potenzmomente dargestellt. Berechnet wurden das zweite, dritte und vierte Moment des Amplitudenhistogramms (Sachs, 1974).

Das zweite Moment entspricht der Amplitudenvarianz, aus der sich die Standardabweichung sigma gegenüber dem Mittelwert (im EEG = 0) errechnen läßt. Sigma wird in Mikrovolt angegeben und entspricht einem Maß für die Amplitude (Standardamplitude). Das dritte Moment (Schiefe) erfaßt Symmetrieeigenschaften des Histogramms. Bei symmetrischen Verteilungen ist der Schiefewert null. Er weicht von null ab, wenn im EEG Wellenformen auftreten, die im Hinblick auf die Basislinie deutlich asymmetrisch sind.

Das vierte Moment ergibt ein Maß für die Steilheit (Wölbung) des Histogramms. Bei Normalverteilung ist dieser Wert ebenfalls null. Negative Werte treten dann auf, wenn eine sehr regelmäßige amplitudenkonstante EEG-Aktivität vorliegt. Positive Abweichungen kommen durch intermittierende, sich deutlich von der Hintergrundaktivität abhebende Ereignisse zustande, wie z.B. paroxysmale Wellengruppen oder Spikes.

2.3.2. Intervallhistographie

Zur Beurteilung des Frequenzverhaltens wurde die Intervallhistographie nach Saltzberg und Burch (1957) durchgeführt. Die zwischen den Nulldurchgängen im EEG gemessenen Zeitintervalle wurden automatisch nach ihrer Länge in 254 Klassen zwischen 4 und 1024 msec eingeteilt. Sobald 5000 Intervalle gemessen worden waren, wurden die Intervallklassen in Form eines Histogramms dargestellt. Die Verteilung war meistens unregelmäßig und keinem der bekannten statistischen Verteilungstypen vergleichbar.

Zur weiteren Beschreibung des Frequenzverhaltens wurden die vier traditionellen Frequenzbänder beta, alpha, theta und delta herangezogen. Die gemessenen Zeitintervalle wurden in Schwingungen pro Sekunde (Hz) umgerechnet und konnten somit auf die vier Frequenzbänder aufgeteilt und in Prozent aller gemessenen Intervalle angegeben werden.

Frequenzbänder:	beta	13,2	-	32	Hz
	alpha	7,6	-	13,2	Hz
	theta	4	-	7,6	Hz
	delta	0,98	-	4	Hz

2.4. Chemisch-analytische Methoden

2.4.1. Messung von HVA im Hirngewebe

Der HVA-Gehalt wurde im Corpus striatum (= Nucleus caudatus und Putamen) der Gehirne gemessen. In der vorliegenden Arbeit kamen zwei verschiedene analytische Bestimmungsmethoden zur Anwendung:

Methode A

Diese Methode beruht auf Extraktion der HVA in stark saurer Lösung mit n-Butylacetat und anschließender Rückextraktion in eine TRIS-Pufferlösung und wurde im wesentlichen von Murphi et al. (1969) übernommen. Der zusätzliche Reinigungsschritt durch Ausschütteln mit Tetrachlorkohlenstoff ist eine Modifikation durch Karasava et al. (1973).

Die anschließende Oxydation der HVA zu einem hochfluoreszierenden Dimerisationsprodukt (Corrodi u. Werdinius, 1965) geht auf eine Arbeit von Anden et al. aus dem Jahre 1963 zurück. Diese Methode wurde nur für HVA-Messungen der ersten Perfusionsserie angewandt.

Das Striatum (ca. 100 mg Gewebe) wurde in 4,0 ml eiskalter 0,4 N $HClO_4$ Lösung homogenisiert und bei -20 °C eingefroren. Das wiederaufgetaute Homogenat wurde mit 1,0 g KCl versetzt, so daß nach kräftigem Schütteln schließlich eine gesättigte Salzlösung entstanden war. Das Homogenat wurde bei 4000 x g 5 Minuten zentrifugiert. Der klare Überstand wurde nochmals mit wenigen KCl-Kristallen versetzt. Die Lösung wurde mit

H_2O-gesättigtem, frisch destilliertem n-Butylacetat 5 Minuten lang leicht geschüttelt (100 U/min, Hub: 50 mm; Universal Schüttelmaschine SM - B1, Buehler, Tübingen) und danach zentrifugiert (4000 x g). 4,0 ml der n-Butylacetatschicht wurden mit 3,0 ml 0,05 M TRIS-Pufferlösung 3 Minuten lang geschüttelt (200 U/min) und anschließend wiederum zentrifugiert. Die n-Butylacetatphase wurde abgesaugt und die TRIS-Pufferlösung zur Reduzierung des Gewebeblindwertes mit 2,0 ml Tetrachlorkohlenstoff 10 Minuten geschüttelt (200 U/min) und schließlich nochmals zentrifugiert. Von der TRIS-Pufferlösung wurden 2,0 ml für die fluorimetrische Bestimmung entnommen.

1,0 ml der TRIS-Lösung wurden mit 0,5 ml 25 % NH_3-Lösung (Suprapur ^{R}) alkalisch gemacht und 0,2 ml einer frisch zubereiteten 0,01 % K_3FeCN_6-Lösung als Oxydationsmittel zugesetzt. Nach genau 4 Minuten wurde die Oxydation durch Zugabe frisch hergestellter 0,05 % L-Cystein-Lösung gestoppt. Weitere 1,0 ml der TRIS-Lösung wurden analog behandelt, die Reihenfolge der Zugabe des Oxydations- und Reduktionsmittels jedoch umgekehrt. Diese Probe stellte dann den Gewebeblindwert dar. Drei Standard-Proben mit jeweils 50 ng HVA in 1,0 ml 0,05 M TRIS-Lösung und zwei Reagenzblindwerte wurden ebenso behandelt. Alle Proben wurden innerhalb von 30 Minuten spektrophotofluorimetrisch vermessen (Excitationswellenlänge 310 nm, Emissionswellenlänge 425 nm; Aminco Bowmann Spektrophotofluorimeter mit Ratiozusatz).

Die Fluoreszenzentwicklung stieg mit steigenden HVA-Mengen (20 - 100 ng) linear an. Die Meßgrenze lag bei 20 ng/Probe. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate von HVA aus Hirnge-

webe war mit 70,3 % relativ gut. Von Nachteil war die Tatsache, daß die Wiederfindungsraten je nach zugefügter HVA-Menge sehr unterschiedlich waren. Gewebeproben mit einem HVA-Gehalt von über 200 ng hatten hohe, Proben mit einem HVA-Gehalt unter 200 ng geringe Wiederfindungsraten (Tabelle 1).

Bei allen weiteren Versuchen wurde der HVA-Gehalt nach der Methode B bestimmt.

Tabelle 1 : HVA-Wiederfindungsraten aus Cerebellumgewebe (Methode A)

Probe	Anzahl der Proben	HVA (ng/Probe)	Wiederfindung (in %)
endogen	2	-	-
+ 100 ng	2	61,4	61,4
+ 150 ng	2	101,4	67,6
+ 200 ng	2	151,6	75,8
+ 250 ng	2	190,7	76,3

1,2 g Cerebellumgewebe wurden in 12,0 ml 0,4 N $HClO_4$ homogenisiert und das Homogenat in zehn gleiche Teile geteilt. Jeweils 2 Teilhomogenate wurden mit steigenden HVA-Mengen versetzt und gründlich durchmischt. Die weitere Aufarbeitung und Messung der Proben erfolgte wie unter 2.4.1. Methode A angegeben.

Methode B

Diese Bestimmung beruht darauf, daß HVA in stark saurer Lösung extrahiert und anschließend mittels Sephadex G 10 säulenchromatographisch isoliert wird. Die anschließende Oxydation wurde - mit kleinen Veränderungen - wie unter Methode A beschrieben durchgeführt. Diese elegante und gut reproduzierbare Trennmethode basiert auf einer Arbeit von Westering und Korf aus dem Jahre 1976.

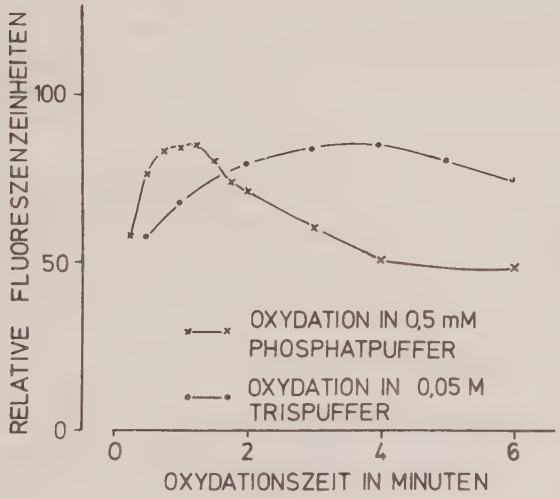
Annähernd 100 mg Striatumgewebe wurden in 1,0 ml 0,4 N $HClO_4$ in einem kleinen Glashomogenisator homogenisiert und bei 4000 x g 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde mit einigen Tropfen einer KOH/HCOOH-Lösung (Mischung aus 60 ml 98 % HCOOH und 200 ml 10 N KOH) auf einen pH-Wert von 2-3 eingestellt, in kleinen Kunststoffgefäßen bei -20 °C eingefroren, wiederaufgetaut und bei 0 °C für 20 Minuten zentrifugiert (4000 x g). 0,8 ml des klaren Überstandes wurden auf eine mit Sephadex G 10 gefüllte Säule (5 x 40 mm) gegeben, welche an ihrem unteren Ende mit einem Stück Glaswolle versehen war. Die Säule wurde mit 3,0 ml 0,01 N NH_3-Lösung und weiteren 3,0 ml 0,01 N HCOOH-Lösung vorbehandelt. Nach Durchlauf des Extraktes wurde die Säule erneut mit 3,0 ml 0,01 N HCOOH-Lösung gewaschen. Adsorbierte HVA wurde mit 0,5 mM Phosphat-Puffer pH 8,5 (900 mg $Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$ und 10 mg KH_2PO_4 in 1000 ml H_2O) von der Säule eluiert. Die Durchlaufgeschwindigkeit betrug 0,2-0,3 ml/min. Die ersten 1,2 ml Eluat wurden verworfen und die folgenden 1,6 ml für die weitere fluorimetrische Umsetzung aufgefangen. Nach Behand-

lung der Säule mit 3,0 ml 0,01 N NH_3-Lösung und Spülen bis zur Neutralität konnte diese für eine erneute Bestimmung benutzt werden.

Die weitere Umsetzung erfolgte im wesentlichen wie unter Methode A angegeben. Die Oxydationszeiten mußten jedoch den veränderten Bedingungen angepaßt werden.

Da bekannt ist, daß die Bildung des fluoreszierenden Dimerisationsproduktes in starkem Maße von der Ionenkonzentration und Zusammensetzung des Oxydationsmediums beeinflußt wird (Korf et al., 1971), wurde der Einfluß des Phosphatpuffers

Abbildung 3 : Der Einfluß der Ionenkonzentration auf die Fluoreszenzentwicklung

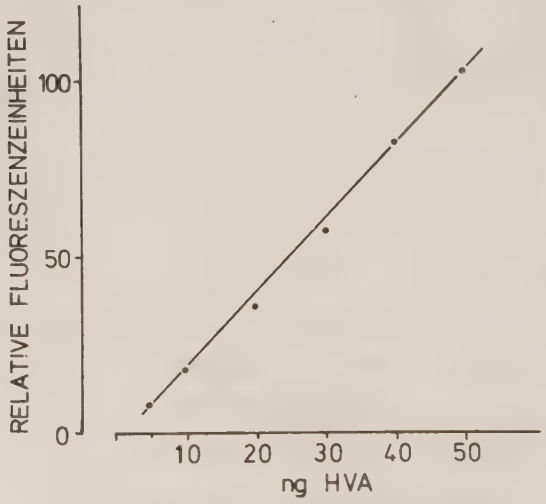


40 ng HVA wurden in 1,0 ml 0,5 mM Phosphatpuffer bzw. 0,05 M TRIS-Puffer gelöst und verschieden langen Oxydationszeiten unterworfen. Die eingezeichneten Markierungen sind Mittelwerte aus jeweils 2 Messungen.

auf die Fluoreszenzentwicklung untersucht. Dabei zeigte sich, daß die Bildung des Fluoreszenzproduktes in 0,05 M TRIS-Puffer deutlich langsamer verläuft als in 0,5 mM Phosphat-Puffer. Die optimale Oxydationszeit betrug 1 Minute. Längere Oxydationszeiten ergaben deutlich erniedrigte Fluoreszenzwerte, wie Abbildung 3 verdeutlicht.

1,6 ml des Eluates wurden in zwei gleiche Teile geteilt. Ein Teil diente als Meßprobe, der andere als Gewebeblindwert. Die Oxydation wurde nach genau 1 Minute durch Zugabe von 0,05 % L-Cystein-Lösung gestoppt.

Abbildung 4 : Linearität der Fluoreszenzentwicklung nach Oxydation verschiedener HVA-Konzentrationen.



Jeweils 1,0 ml 0,5 mM Phosphatpufferlösung wurden mit steigenden HVA-Mengen versetzt und die Fluoreszenzentwicklung nach einer Minute gemessen. Die Fluoreszenzentwicklung war über einen Bereich von 5 - 50 ng linear.

Tabelle 2 : HVA-Wiederfindungsraten aus Cerebellumgewebe (Methode B)

Probe	Anzahl der Proben	HVA (ng/Probe)	Wiederfindung (in %)
endogen	2	-	-
+ 50 ng	2	40,0	80,0
+ 75 ng	2	67,6	90,2
+ 100 ng	2	80,0	80,0
+ 150 ng	2	141,0	94,1
+ 200 ng	2	179,0	89,4

1,5 g Cerebellumgewebe wurden in 15,0 ml 0,4 N $HClO_4$ homogenisiert, das Homogenat in 12 gleiche Teile geteilt und die Teilhomogenate mit steigenden HVA-Mengen versetzt. Die weitere Aufarbeitung und Messung der Proben erfolgte wie unter 2.4.1. Methode A angegeben.

Die Beziehung zwischen HVA-Konzentration und Fluoreszenzentwicklung war in einem Bereich von 5 - 50 ng linear (Abb. 4). Die Meßgrenze lag bei 5 ng/Probe und war damit deutlich niedriger als unter Methode A. Dieser Umstand war allein auf die Verbesserung der Wasserqualität zurückzuführen (Millipore-Mischbettaustauscher mit vorgeschaltetem Kohlefilter). Die durchschnittliche Wiederfindungsrate von HVA aus Cerebellum-Hirngewebe war mit 86,8 % sehr hoch und im Gegensatz zur Methode A auch bei Gewebemengen mit einem Gehalt unter 100 ng HVA noch ausreichend gut (Tabelle 2).

2.4.2. Messung von MOPEG-SO_4 im Hirngewebe

Die Bestimmungsmethode geht auf Arbeiten von Meek und Neff (1972) zurück und beruht darauf, daß nach säulenchromatographischer Trennung über Sephadex DEAE 25 das MOPEG-SO_4 in stark saurer Lösung hydrolisiert wird und anschließend mit Äthylendiamin in der Hitze zu einem stabilen, hochfluoreszierenden Produkt umgesetzt wird.

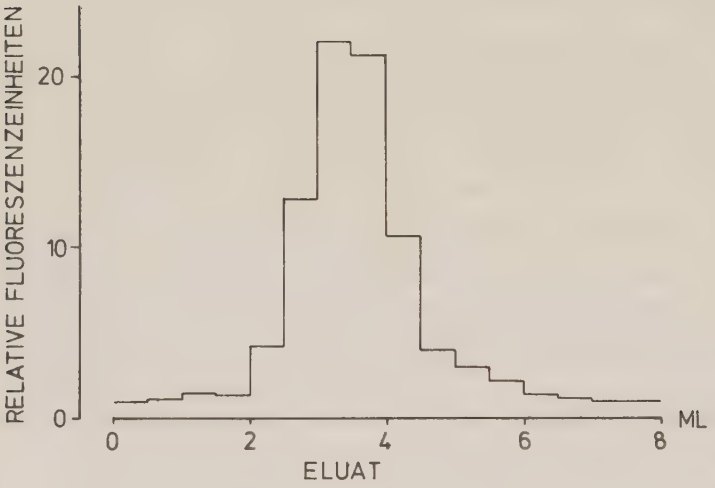
Die einzelnen Hirnstrukturen wurden mit der 4fachen Gewichtsmenge eiskalter 0,2 M $ZnSO_4$-Lösung homogenisiert, mit der gleichen Menge einer 0,2 M $Ba(OH)_2$-Lösung versetzt und kräftig geschüttelt. Der Homogenatbrei wurde anschließend zentrifugiert (4000 x g). Ein aliquoter Teil des wasserklaren Überstandes wurde direkt auf eine vorbehandelte Sephadex DEAE 25 Säule gegeben (5 x 50 mm). Die Säule war unmittelbar vorher mit 5,0 ml 0,15 N HCl-Lösung behandelt und mit Wasser bis zur Neutralität gewaschen worden. Nach Durchlauf des Extraktes wurde mit Wasser gespült und mit 8,0 ml 0,04 N HCl-Lösung eluiert. Anhaftende schwache Anionen, welche die weitere fluorimetrische Bestimmung stören, wurden hiermit entfernt. MOPEG-SO_4 wurde erst mit einer 0,15 N HCl-Lösung von der Säule eluiert. Die ersten 2,0 ml wurden verworfen, die weiteren 3,3 ml für die weitere fluorimetrische Bestimmung verwandt (Abbildung 5). Nach Reinigung der Säule mit 0,15 N HCl-Lösung und Spülen bis zur Neutralität war die Säule sofort für eine neue Bestimmung präpariert.

Für die weitere Umsetzung zu einer fluoreszierenden Verbindung wurde das Eluat mit 0,2 ml 60 % $HClO_4$-Lösung stark angesäuert, mit 0,1 ml 1,8 % L-Cystein-Lösung versetzt, gründlich vermischt und in drei gleiche Teile aufgeteilt: Zwei Meßproben und ein Gewebeblindwert. Die Meßproben wurden im Wasserbad bei 100 °C 12 Minuten lang erhitzt (ausgenommen die Probe für den Gewebeblindwert). Drei Standard-Proben, die je 10 ng MOPEG-SO_4 in 1,2 ml einer Mischung aus 0,15 N HCl, 60 % $HClO_4$ und 1,8 % L-Cystein-Lösung enthielten, und zwei Reagenzblindwerte (ohne MOPEG-SO_4) wurden ebenso behandelt. Nach Abkühlung wurde allen Proben 0,2 ml redestilliertes Äthylendiamin zugesetzt, die Proben kräftig geschüttelt und im Wasserbad nochmals 5 Minuten bei 100 °C erhitzt. Die auf Raumtemperatur abgekühlten Proben wurden spektrofluorimetrisch vermessen (Excitation: 325 nm, Emission: 465 nm). Das entstandene Fluoreszenzprodukt war über Stunden stabil).

Die Linearität zwischen MOPEG-SO_4-Konzentration und Fluoreszenzentwicklung war in einem Bereich zwischen 2 und 40 ng gewährleistet (Abbildung 6). Die Meßgrenze lag bei 2 ng MOPEG-SO_4. Die durchschnittliche Wiederfindungsrate von MOPEG-SO_4 aus Hirngewebe betrug 65,8 %.

2 g Cerebellum-Hirngewebe wurden in 10,0 ml 0,2 M $ZnSO_4$-Lösung homogenisiert, zu je 1,0 ml Homogenat steigende Mengen an MOPEG-SO_4 (20 - 50 ng) zugefügt, mit 0,2 M $Ba(OH)_2$-Lösung neutralisiert und wie oben angegeben aufgearbeitet. Die absoluten und prozentualen Wiederfindungsraten sind in Tabelle 3 wiedergegeben.

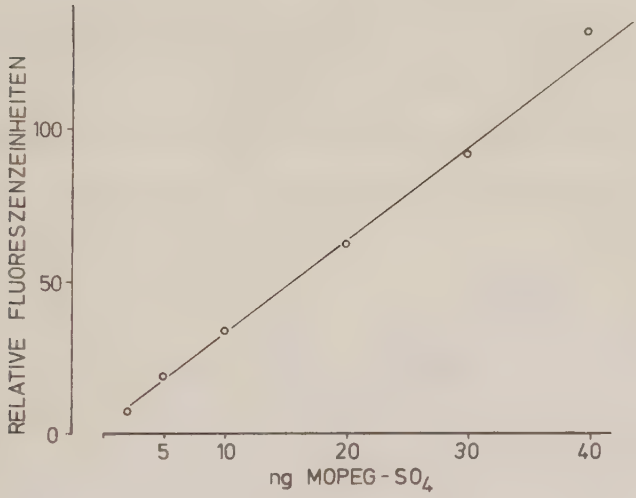
Abbildung 5 : MOPEG-SO_4-Elutionsprofil von Sephadex DEAE 25



3,0 ml einer wäßrigen Lösung mit 200 ng MOPEG-SO_4 wurden über eine mit Sephadex DEAE gefüllte Säule (5 x 50 mm) gegeben, das Eluat in 0,5 ml Fraktionen aufgefangen und fluorimetrisch vermessen. Fast die gesamte MOPEG-SO_4-Menge wurde in den Fraktionen zwischen 2,0 und 5,5 ml wiedergefunden.

Die geringe Wiederfindungsrate war auf die hohe Adsorption an dem feinen Niederschlag aus $Ba(OH)_2$ und $ZnSO_4$ zurückzuführen. Eine Extraktion mit Perchlorsäure mit anschließender Neutralisation mit $KHCO_3$, wie sonst üblich, führte zu keinem Erfolg. Der auf diese Weise hergestellte Auszug enthielt noch zu viele Elektrolyte, so daß die Kapazität des Sephadex DEAE 25 (3,5 mÄq /g) weit überschritten wurde.

Abbildung 6 : Proportionalität zwischen MOPEG-SO_4-Konzentration und Fluoreszenzentwicklung



Jeweils 1,2 ml einer 0,15 N HCl-Lösung wurden mit steigenden MOPEG-SO_4-Mengen versetzt und wie o.a. vermessen. Die Fluoreszenzentwicklung war über einen Bereich von 2 - 40 ng MOPEG-SO_4 linear.

Tabelle 3 : MOPEG-SO_4-Wiederfindungsraten aus Cerebellumgewebe.

Probe	Anzahl der Proben	MOPEG-SO_4 (ng/Probe)	Wiederfindung (in %)
endogen	4	7,9	-
+ 20,0 ng	2	21,0	66,0
+ 30,0 ng	2	29,0	70,5
+ 40,0 ng	2	33,1	63,0
+ 50,0 ng	2	40,0	64,2

2,0 g Cerebellumgewebe wurden in 10,0 ml 0,2 M $ZnSO_4$-Lösung homogenisiert und das Homogenat in 12 gleiche Teile geteilt. Die Teilhomogenate wurden mit steigenden MOPEG-SO_4-Mengen versetzt und gründlich durchmischt. Die weitere Aufarbeitung und Messung der Proben geschah wie unter 2.4.2. beschrieben.

2.4.3. Messung der Pharmaka im Erythrozyten-Perfusionsmedium

Die Pharmaka wurden in stark alkalischem Milieu als Basen mit einem geeigneten Lösungsmittel bzw. Lösungsmittelgemisch extrahiert und anschließend dünnschichtchromatographisch getrennt. Als Extraktionsmittel für CPZ und eine Reihe seiner Metaboliten hatte sich Dichlormethan (DCM) bewährt.

Die hydroxylierten Metaboliten des CPZ ließen sich aus stark alkalischen Lösungen nur sehr schlecht extrahieren, da sie als Phenolate vorliegen. Zur Extraktion dieser Verbindungen hatte sich ein Gemisch aus DCM/n-Propanol bei einem pH von 8 - 9

als günstig erwiesen. Nach zweimaliger Extraktion mit DCM bzw. DCM/n-Propanol konnten CPZ und eine große Zahl seiner Metaboliten in durchschnittlich 85 % Ausbeute wiedergefunden werden (Chan u. Gershon, 1973).

Das Perfusionsmedium wurde bei 4000 x g 10 Minuten zentrifugiert. 10 ml des Albuminüberstandes wurden mit 5 ml 1N NaOH-Lösung stark alkalisch gemacht (pH 14) und zweimal mit je 25 ml DCM unter N_2-Atmosphäre 20 min extrahiert (150 U/min). Die vereinigten DCM-Extrakte wurden mit 10 g Na_2SO_4 sicc. von Wasser befreit und filtriert. 30,0 ml des DCM-Extraktes wurden im Rotavapor zur Trockne eingedampft, in 1,0 ml DCM wiederaufgenommen und in kleinen Glasgefäßen bis auf ca. 50 µl eingeengt. Der eingeengte Extrakt wurde quantitativ auf eine Dünnschichtplatte (Kieselgel F_{254}, 0,5 mm, 20 x 20) aufgetragen und unter folgenden Bedingungen chromatographiert:
Fließmittel: Aceton:Methanol:NH_3 25 % (50:50:1),
Laufhöhe: 12 cm,
Kammersättigung, Raumtemperatur.

Nach chromatographischer Trennung wurden die Platten an der Luft getrocknet und unter UV-Licht betrachtet bzw. gekennzeichnet.

Die hydroxylierten CPZ-Metaboliten wurden zweimal mit 25 ml einer Mischung von DCM/n-Propanol (7+3) bei einem pH von 8 - 9 wie oben angegeben extrahiert.

Die quantitative Bestimmung der Phenothiazine wurde nach Ragland und Kinross-Wright (1964) durchgeführt. Die Flecken wurden von der Platte abgekratzt, mit 1,1 ml 50 % Essigsäure

30 Minuten extrahiert (150 U/min) und anschließend zentrifugiert. 1,0 ml des Überstandes wurden mit 0,2 ml H_2O_2 (30 %) versetzt, im Wasserbad bei 100 °C 10 Minuten erhitzt und nach Abkühlung fluorimetrisch vermessen (Excitation: 340 nm, Emission: 380 nm).

Die Fluoreszenzentwicklung war für die Substanzen CPZ, CPZ-NO und CPZ-SO über einen Bereich von 2,5 - 50 nmol linear.

2.4.4. Messung der Pharmaka im Fluorcarbon-Perfusionsmedium

Eine Extraktion der Pharmaka mit organischen Lösungsmitteln erwies sich als nicht erfolgreich, da der nichtionogene Emulgator Pluronic ® F 68 in allen gebräuchlichen organischen Lösungsmitteln ebenfalls löslich war.

Eine Isolierung gelang jedoch durch Adsorption der Pharmaka an Amberlite XAD-2 Harz (Kelsey und Moscatelli, 1973; Gelbke et al. 1978). Die isolierten Phenothiazine bzw. tricyclischen Pharmaka wurden dünnschichtchromatographisch aufgetrennt und direkt quantitativ vermessen.

Reinigung des Amberlite XAD-2

300 g Amberlite Harz wurden in 2 Liter destilliertem Wasser suspendiert, der trübe Überstand dekantiert und der Vorgang so lange wiederholt, bis der Überstand klar war. Das Harz wurde abfiltriert, getrocknet und in einer Soxhlet-Apparatur 8 h lang einer weiteren Reinigung mit Aceton unterworfen.

Das gereinigte Harz wurde acetonfrei gewaschen und unter destilliertem Wasser bei 4 °C bis zum Gebrauch gelagert.

Isolierung der Pharmaka und quantitative Bestimmung

20,0 ml Fluorcarbon-Medium wurden direkt über eine mit Amberlite XAD-2 gefüllte Säule (1 x 15 cm) gegeben. Die Durchlaufgeschwindigkeit betrug 3 - 4 ml/min. Nach Durchlauf des Mediums durch das Säulenmaterial wurde mit 50 ml destilliertem Wasser nachgewaschen, trockengesaugt und anschließend zweimal mit je 25 ml Aceton eluiert. Die vereinigten Eluate wurden zur Trockene eingeengt und der Rückstand 12 h über Phosphorpentoxid im Vakuum nachgetrocknet. Der Rückstand wurde in 1,0 ml wasserfreiem Aceton wiederaufgenommen, mit innerem Standard (50 nmol NOR_2-CPZ-SO) versetzt und in kleine mit Teflonstopfen verschließbare Glasgefäße überführt. Die Lösung wurde im N_2-Gasstrom auf ca. 0,5 ml eingeengt und in ein Eisbad gestellt. Ausgefallenes Pluronic^R F 68 wurde abzentrifugiert, vom Überstand jeweils 10 µl auf eine Dünnschichtplatte (Kieselgel F_{254}, 0,25 mm, 20 x 20 cm) aufgetragen und chromatographiert. CPZ und die zu erwartenden Metaboliten wurden auf jeder Platte in Mengen von 0,4, 1,2 und 2,0 nmol mitchromatographiert. Die chromatographischen Bedingungen waren wie in 2.4.3. angegeben. Die entwickelten Platten wurden getrocknet und im Exsiccator unter N_2-Atmosphäre bis zur quantitativen Messung im Dunkeln aufbewahrt.
Die quantitative Auswertung der Substanzflecken erfolgte mit dem Chromatogramm Spektralphotometer (Zeiss, Oberkochen).

Lichtquelle: Deuterium Lampe

Meß-Wellenlänge: 255 nm für CPZ und Metaboliten

Meß-Spalt: 0,5 x 3,5 mm

Schreiber: Metrohm Labograph E 478

Die Auswertung erfolgte graphisch über die Peakhöhe.

Die Wiederfindungsraten von CPZ und seinen Metaboliten aus dem Fluorcarbon-Medium nach der oben beschriebenen Methode sind in der Tabelle 4 wiedergegeben.

Tabelle 4 : Wiederfindungsraten verschiedener Phenothiazine aus Fluorcarbon-Perfusionsmedium.

Phenothiazin-derivat	zugesetzt (nmol)	gemessene Gesamtphenothiazine	Wiederfindung (in %)
CPZ	200	160	80
CPZ-SO	200	194	97
CPZ-NO	200	226	113
CPZ-NO-SO	200	187	93

Die angegebenen Substanzen wurden im nicht-oxygenierten Fluorcarbon-Perfusionsmedium gelöst und der Gehalt wie oben angegeben bestimmt. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus jeweils 2 Bestimmungen.

2.5. Statistische Berechnungen

2.5.1. EEG-Meßwerte

Die Werte wurden als Mittelwerte aus n Versuchen angegeben. Streuungsangaben stellen den mittleren Fehler des Mittelwertes dar ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Da die aus den Amplituden- bzw. Intervallhistogrammen erhaltenen Meßwerte teils asymmetrische Verteilungen aufwiesen oder prozentuale Häufigkeiten darstellten, wurden zur Feststellung signifikanter Unterschiede verteilungsfreie Tests angewendet. Berücksichtigt wurden dabei nur Meßwerte der 2. Perfusionsperiode (20 min Perfusion).

Für die globale Prüfung, ob überhaupt ein Unterschied zwischen den Versuchsreihen besteht, wurde die Rangvarianzanalyse nach Kruskal u. Wallis (Sachs, 1974) benutzt. Fielen diese Tests signifikant aus, wurden multiple paarweise Vergleiche nach Nemenyi (Sachs, 1974) angeschlossen. Mögliche signifikante Beziehungen zwischen EEG-Meßwerten und MOPEG-SO_4- bzw. HVA-Werten wurden mit Hilfe des Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman (Sachs, 1974) geprüft.

2.5.2. Biochemische Meßwerte

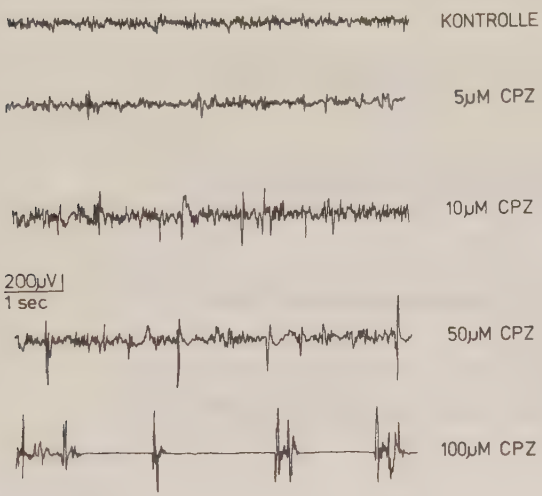
Die biochemischen Werte wurden als Mittelwerte aus n Versuchen angegeben. Streuungsangaben stellen die Standardabweichung vom Mittelwert dar ($\bar{x} \pm s_x$). Signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Meßreihen wurden mit dem U-Test nach Wilcoxon, Mann und Whitney festgestellt (Sachs, 1974).

3. E R G E B N I S S E

3.1. Einfluß unterschiedlicher CPZ-Konzentrationen auf das EEG

Die Effekte verschiedener Konzentrationen von CPZ im Perfusionsmedium auf das EEG des isolierten Gehirns sind aus Abbildung 7 ersichtlich. Bei den Kontrollversuchen war unter den Versuchsbedingungen eine mittelhohe, frequenzlabile Grundaktivität vorwiegend im beta Bereich zu beobachten. Bei Perfusionsversuchen mit 5 µM CPZ im Medium war das EEG gegenüber Kontrollversuchen kaum verändert. Erst unter 10 µM CPZ zeigten sich ausgeprägte Effekte. Die durchgehend vorhandene beta-Hintergrundaktivität wurde von Spikes, steilen und langsamen Wellen unterbrochen, verbunden mit einer deutlichen Zunahme der Amplitude. Bei Erhöhung der Konzentration im Medium auf 50 µM war die beta-Hintergrundaktivität schon teilweise erloschen. Dafür traten vermehrt Spitzenentladungen und langsame Wellen auf. Eine Konzentration von 100 µM CPZ ließ die bisher beobachtete Grundaktivität vollständig verschwinden. Es traten mehr oder weniger periodische Gruppen von Spikes und steilen Wellen hoher Amplitude auf. Zwischen den gruppierten Entladungen war das EEG sehr flach. Diese Muster entsprechen den "secondary discharges" von Dempsey u. Morrison (1941) - im klinischen EEG als "burst suppression pattern" bezeichnet - und sind wohl bereits Anzeichen einer toxischen Wirkung.

Abbildung 7 : Der Einfluß verschiedener CPZ-Konzentrationen im Perfusionsmedium auf das EEG des isolierten Rattenhirns.



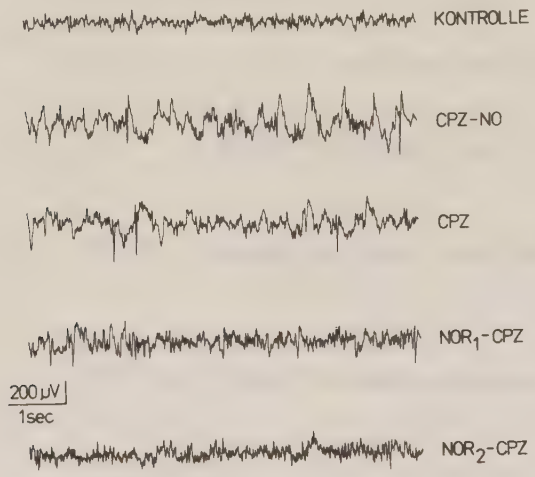
Das EEG wurde bipolar von beiden Hemisphären über der Parietalregion abgeleitet. Die Abbildung zeigt jeweils eine der in der Regel symmetrischen und synchronen EEG-Kurven nach 20 Minuten Perfusion. CPZ war in Konzentrationen von 5 - 100 µM im Perfusionsmedium gelöst. Zum Vergleich ist das EEG eines Kontrollversuchs wiedergegeben, der ohne Pharmakonzugabe durchgeführt wurde.

3.2. Versuche mit CPZ und Seitenkettenmetaboliten

3.2.1. Effekte auf das EEG

Die aufgetretenen elektroencephalographischen Veränderungen unter dem Einfluß der verschiedenen Pharmaka sind in Abbildung 8 zu erkennen. Für die Kontrollgehirne war wiederum eine schnelle

Abbildung 8 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf das EEG des isolierten Rattenhirns.



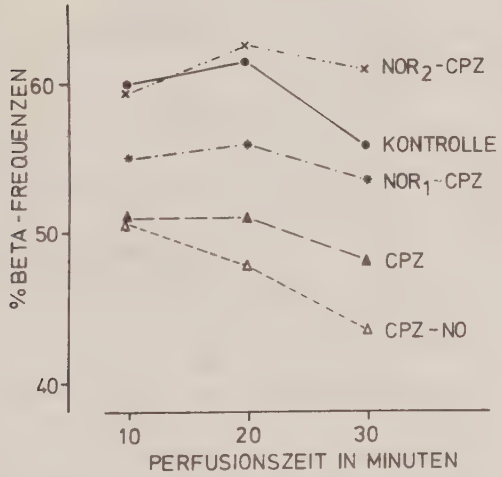
Die Abbildung zeigt jeweils eine der in der Regel symmetrischen und synchronen EEGs nach 20 Minuten Perfusion. Die Konzentration der Pharmaka im Perfusionsmedium betrug 10 µM. Kontroll-EEGs wurden ohne Zusatz eines Pharmakons zum Perfusionsmedium erhalten.

beta-Aktivität vorherrschend. Spitzenentladungen, steile und langsame Wellen unterschiedlicher Ausprägung waren für die mit Pharmaka perfundierten Gehirne charakteristisch. Unter CPZ und CPZ-NO traten diese Erscheinungen am deutlichsten hervor, während unter NOR_1-CPZ und NOR_2-CPZ nur noch leichte EEG-Veränderungen festzustellen waren. Das Ausmaß der einzelnen Veränderungen wurde mit Hilfe der quantitativen EEG-Analyse ermittelt.

Intervallhistographie

Unter dem Einfluß der Pharmaka waren deutliche Veränderungen im beta-Frequenzanteil sowie im Anteil der theta- und delta-Frequenzen festzustellen, während der alpha-Frequenzanteil weitgehend unbeeinflußt blieb (Tabelle 5). Unter CPZ-Einwirkung kam es zu einer signifikanten Verringerung des beta-Anteils, welche unter CPZ-NO noch stärker ausgeprägt war. Bei Perfusionen mit NOR_1-CPZ und NOR_2-CPZ waren hingegen keine Veränderungen dieses Frequenzbereiches zu beobachten (Abbildung 9).

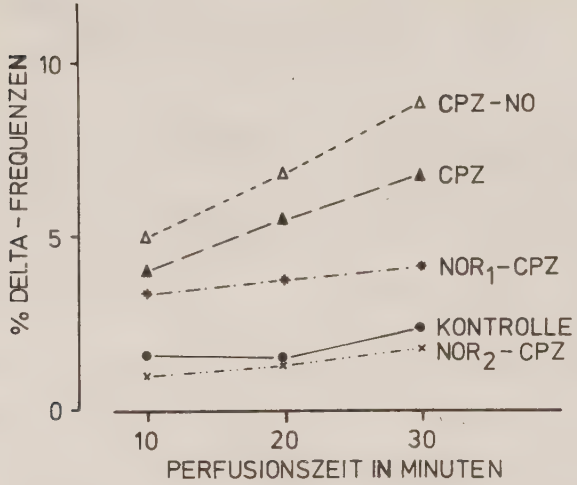
Abbildung 9 : Der Einfluß von CPZ und einiger seiner Metaboliten auf den Anteil der beta-Frequenzen im EEG.



Die eingezeichneten Markierungspunkte geben die Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen wieder. Der besseren Übersicht wegen sind die Streuungsangaben in der Graphik weggelassen. Statistisch signifikante Unterschiede sind in der Tabelle 11 wiedergegeben.

Bei den langsamen delta-Frequenzen waren die Veränderungen entgegengesetzt (Abbildung 10). CPZ-NO bewirkte einen signifikanten Anstieg sowohl der theta- als auch der delta-Frequenzen. Auch unter CPZ war ein Anstieg langsamer Frequenzen festzustellen, der statistisch jedoch nicht mehr signifikant war (Tabelle 5). Die durch NOR_1-CPZ und NOR_2-CPZ hervorgerufenen Veränderungen wichen in keinem Frequenzparameter wesentlich von den Kontrollen ab.

Abbildung 10 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf den Anteil der delta-Frequenzen im EEG.



Die eingezeichneten Markierungspunkte geben die Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen wieder. Der besseren Übersicht wegen sind die Streuungsangaben in der Graphik weggelassen. Statistische Vergleiche siehe Tabelle 11.

Tabelle 5 : Der Einfluß von CPZ und einiger seiner Metaboliten auf den Anteil der alpha- und theta-Frequenzen des EEG

Anteil der Frequenzen in %

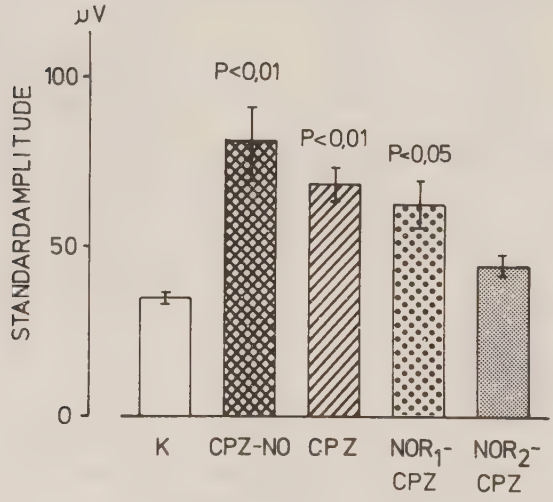
	alpha	theta
Perfusionszeit: 10 min		
Kontrolle	25,36 ± 0,53	12,96 ± 1,84
CPZ-NO	26,01 ± 1,08	18,03 ± 1,54
CPZ	26,83 ± 0,56	18,20 ± 1,41
NOR_1-CPZ	26,40 ± 0,82	15,17 ± 2,39
NOR_2-CPZ	26,72 ± 0,82	12,72 ± 1,46
Perfusionszeit: 20 min		
Kontrolle	25,53 ± 1,16	11,35 ± 1,28
CPZ-NO	25,61 ± 1,35	19,75 ± 1,82
CPZ	25,63 ± 0,95	17,83 ± 1,69
NOR_1-CPZ	25,33 ± 1,09	14,99 ± 2,31
NOR_2-CPZ	25,39 ± 0,58	10,78 ± 0,92
Perfusionszeit: 30 min		
Kontrolle	27,52 ± 1,37	14,19 ± 1,95
CPZ-NO	26,22 ± 1,61	21,54 ± 1,93
CPZ	26,84 ± 0,63	18,45 ± 1,09
NOR_1-CPZ	26,03 ± 1,11	16,25 ± 1,62
NOR_2-CPZ	25,63 ± 0,99	11,48 ± 1,74

Die angegebenen Werte wurden aus den Daten der Intervallhistographie errechnet und sind als Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen angegeben. Die den Berechnungen zugrundeliegenden EEG-Aufzeichnungen wurden 10, 20 und 30 Minuten nach Beginn der Perfusionen gemacht. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Statistische Vergleiche siehe Tabelle 11.

Amplitudenhistographie

Unter der Einwirkung aller untersuchten Pharmaka kam es zu einem Anstieg der Standardamplitude (Abbildung 11). Das Ausmaß des Anstieges war für die einzelnen Pharmaka recht unterschiedlich. Betrug die durchschnittliche Standardamplitude bei den Kontrollperfusionen 34,9 µV, so stieg diese nach Perfusion mit CPZ oder CPZ-NO auf annähernd den doppelten Wert an.

Abbildung 11 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf die Standardamplitude des EEGs.



Die Standardamplitude wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (2. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode berechnet. Die Säulen stellen Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen dar. Die Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) angegeben. Signifikante Veränderungen gegenüber der Kontrolle sind über den Säulen eingezeichnet.

Auch bei mit NOR_1-CPZ durchgeführten Perfusionen war dieser Anstieg noch signifikant ($p < 0,05$). Lediglich bei den NOR_2-CPZ-Versuchen war kein signifikanter Unterschied gegenüber den Kontrollen mehr nachweisbar. Die Unterschiede zwischen CPZ und seinen Metaboliten traten noch eindrucksvoller bei den Maßen für Schiefe und Wölbung in Erscheinung (Tabelle 6, Abbildung 12). Diese Maße erlauben quantitative Aussagen über

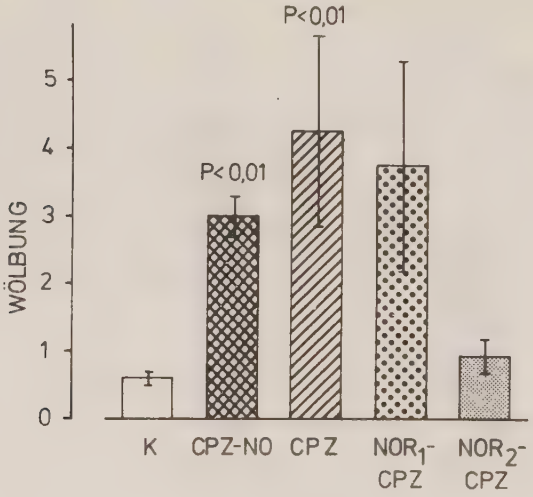
Tabelle 6 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf verschiedene Meßwerte des Amplitudenhistogramms

Pharmakon	Standard-amplitude (µV)	Schiefe	Wölbung
Kontrolle	34,9 ± 1,7	0,063 ± 0,008	0,360 ± 0,098
CPZ-NO	81,4 ± 11,3	0,485 ± 0,053	3,014 ± 0,323
CPZ	68,7 ± 5,3	0,550 ± 0,213	4,260 ± 1,380
NOR_1-CPZ	63,3 ± 7,0	0,538 ± 0,229	3,726 ± 1,544
NOR_2-CPZ	45,0 ± 3,1	0,211 ± 0,051	0,952 ± 0,267

Die Maße für Standardamplitude, Schiefe und Wölbung wurden aus den Daten der Amplitudenhistographie berechnet (2., 3. und 4. zentrales Moment). Die Angaben beziehen sich auf die 2. Perfusionsperiode (20 min nach Perfusionsbeginn) und sind Mittelwerte von jeweils 7 Perfusionsversuchen. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Statistische Vergleiche siehe Tabelle 11.

das Auftreten bestimmter EEG-Phänomene wie z.B. Spitzenentladungen oder paroxysmale Wellengruppen. Wie aus Abbildung 12 ersichtlich, wurden die höchsten Werte bei den CPZ- bzw. CPZ-NO-Experimenten gefunden. Auch unter NOR_1-CPZ war das Wölbungsmaß stark erhöht. Wegen der hohen Streuung innerhalb der Versuchsgruppe war dieser Anstieg statistisch nicht mehr signifikant. Bei Versuchen mit NOR_1-CPZ waren auch diese Parameter nur unwesentlich beeinflußt.

Abbildung 12 : Die Beeinflussung des Wölbungsmaßes durch CPZ und einige seiner Metaboliten



Das Maß der Wölbung wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (4. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode berechnet. Die Säulen stellen die Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen dar. Die Streuungsangaben sind als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ angegeben. Signifikante Veränderungen gegenüber der Kontrolle sind über den Säulen eingezeichnet.

3.2.2. Effekte auf den HVA-Gehalt im Corpus striatum

Der Einfluß von CPZ und seinen Metaboliten auf den HVA-Gehalt im Corpus striatum der isolierten Gehirne ist in Tabelle 7 dargestellt. Aus der Tabelle ist zu ersehen, daß es allein unter den Bedingungen der Perfusion zu einem Anstieg des HVA-Gehaltes im Striatum der isolierten Gehirne kam. Perfusion mit

Tabelle 7 : HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne nach Perfusion mit CPZ und einigen seiner Metaboliten.

Pharmakon	HVA-Gehalt (Striatum)
$Kontrolle_{in\ vivo}$	0,251 ± 0,043 (8)
$Kontrolle_{perfundiert}$	0,345 ± 0,116 (9)
CPZ-NO	$0,531 \pm 0,138^{++}$ (7)
CPZ	$0,452 \pm 0,126^{+}$ (9)
NOR_1-CPZ	0,412 ± 0,132 (9)
NOR_2-CPZ	0,317 ± 0,136 (7)

Die Pharmaka wurden im Perfusionsmedium in einer Konzentration von 10 µM gelöst. Kontrollperfusionen wurden ohne Zugabe eines Pharmakons durchgeführt. Nach Beendigung der Perfusion (30 Minuten) wurde der HVA-Gehalt im Striatum fluorimetrisch bestimmt. In-vivo-Kontrollen sind Gehirne unbehandelter Ratten, welche durch Dekapitieren getötet wurden. Alle Striata wurden bei -80 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht). Anzahl der Einzelbestimmungen in Klammern. Statistisch signifikante Unterschiede gegenüber der perfundierten Kontrolle: ++ $p < 0,01$; + $p < 0,05$.

CPZ im Medium führte zu einem weiteren Anstieg der HVA-Werte ($p < 0,05$ gegenüber der perfundierten Kontrolle). Noch deutlicher ausgeprägt war der Anstieg unter der Wirkung von CPZ-NO. Die anderen untersuchten Metaboliten hatten unter diesen experimentellen Bedingungen keinen wesentlichen Einfluß auf diesen Meßparameter.

3.2.3. Effekte auf den MOPEG-SO_4-Gehalt in verschiedenen Hirnstrukturen

Die MOPEG-SO_4-Konzentrationen im Kortex sowie im "Resthirn" (Gesamthirn ohne Kortex und Striatum) unter dem Einfluß der Pharmaka sind in Tabelle 8 wiedergegeben. Der Vergleich des MOPEG-SO_4-Gehaltes der in-vivo-Kontrollgehirne mit perfundierten Kontrollgehirnen zeigt, daß es unter den beschriebenen Perfusionsbedingungen zu einem signifikanten Anstieg in den untersuchten Hirnstrukturen kam. Der Anstieg der MOPEG-SO_4-Werte war damit deutlich höher als der Anstieg der HVA-Werte im Striatum unter denselben Bedingungen. CPZ und CPZ-NO hatten auf den MOPEG-SO_4-Gehalt der beiden Hirnstrukturen nur wenig Einfluß. Bei Perfusionen mit NOR_1-CPZ waren signifikant erniedrigte MOPEG-SO_4-Werte im "Resthirn" zu beobachten. Unter dem Einfluß von NOR_2-CPZ war der MOPEG-SO_4-Gehalt sowohl im Kortex als auch im "Resthirn" erniedrigt.

Tabelle 8 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf die MOPEG-SO_4-Konzentration in verschiedenen Strukturen des isolierten Gehirns.

Pharmakon	MOPEG-SO_4-Gehalt Kortex	Gesamthirn (ohne Kortex u. Striatum)
$Kontrolle_{in\ vivo}$	0,119 ± 0,021^{+++} (8)	0,128 ± 0,020^{+++} (8)
$Kontrolle_{perfundiert}$	0,192 ± 0,024 (10)	0,214 ± 0,025 (10)
CPZ-NO	0,187 ± 0,031 (7)	0,196 ± 0,021 (7)
CPZ	0,194 ± 0,028 (9)	0,224 ± 0,031 (9)
NOR_1-CPZ	0,179 ± 0,023 (9)	0,182 ± 0,026^{+} (8)
NOR_2-CPZ	0,167 ± 0,024^{+} (7)	0,182 ± 0,029^{+} (7)

Die Pharmaka wurden im Perfusionsmedium in einer Konzentration von 10 µM gelöst. Perfundierte Kontrollen wurden ohne Zugabe eines Pharmakons durchgeführt. Die Perfusionszeit betrug 30 Minuten. In-vivo-Kontrollen sind Gehirne unbehandelter Ratten, welche dekapitiert worden sind. Die Hirnstrukturen wurden nach Einfrieren in flüssigem N_2 bei -80 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht). Anzahl der Einzelbestimmungen in Klammern. Statistisch signifikante Unterschiede gegenüber der perfundierten Kontrolle: +++ $p < 0,001$; + $p < 0,05$.

3.2.4. Metabolisierung der Pharmaka im Perfusionsmedium

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der Perfusionsmedien nach Beendigung der Perfusion ergab, daß sowohl CPZ als auch seine mono- und didesmethylierten Verbindungen zu etwa 5 - 10 % in ihre Sulfoxidverbindungen umgewandelt wurden. CPZ-NO wurde im Perfusionsmedium zu einem beachtlichen Teil zu CPZ reduziert. Das Ausmaß der Veränderungen ist aus der Tabelle 9 zu ersehen.

Schon unmittelbar nach Zugabe des Pharmakons zum Perfusionsmedium waren 31 % von den insgesamt wiedergefundenen Phenothiazinen zum CPZ reduziert. Zu diesem Zeitpunkt war noch kaum CPZ-SO nachzuweisen. Nach 60 Minuten Rezirkulation in der Apparatur war der Gehalt von CPZ und auch der des CPZ-NO im Medium verringert, der Gehalt an CPZ-SO erhöht. Der gegenüber den Ausgangswerten verringerte Gehalt des CPZ und CPZ-NO war sicherlich auf die Adsorption der Pharmaka an die Kunststoff- und Glasteile der Perfusionsapparatur zurückzuführen (Fleck et al., 1972).

Tabelle 9 : Konzentration von CPZ-NO und verschiedenen Metaboliten im Erythrozyten-Perfusionsmedium vor und nach Perfusion der isolierten Gehirne.

Pharmakon	zugesetzt	Konzentration im Albuminüberstand des Perfusionsmediums (nmol/10 ml) gemessen (a) ohne Rezirkulation	gemessen (b) nach Rezirkulation	gemessen (c) nach Perfusion
CPZ-NO	100	40,7 ± 4,2 (4)	35,0 ± 6,7 (4)	32,3 ± 7,8 (4)
CPZ	-	19,6 ± 2,2 (4)	13,9 ± 3,9 (4)	13,5 ± 5,7 (4)
CPZ-SO	-	Spur (2)	4,4 (2)	6,5 (2)

CPZ-NO wurde in einer Konzentration von 10 µM dem Perfusionsmedium zugegeben. Die Arzneimittelkonzentrationen im Albuminüberstand wurden unmittelbar nach Bereitung des Mediums (a), nach 60 Minuten Rezirkulation in der Apparatur (b) sowie nach 30 Minuten Perfusion gemessen (c). Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$; Anzahl der Einzelbestimmungen in Klammern.

3.2.5. Korrelation der EEG-Effekte mit biochemischen Meßwerten.

Nimmt man die EEG-Meßwerte der 2. Perfusionsperiode aus allen Perfusionsexperimenten (mit Pharmakon perfundierte Gehirne und perfundierte Kontrollgehirne) und vergleicht diese mit den entsprechenden HVA-Werten im Striatum bzw. den MOPEG-SO_4-Werten im Kortex, so ergeben sich nach Spearman die in der Tabelle 10 aufgeführten Korrelationskoeffizienten.

Tabelle 10 : Korrelationen zwischen EEG-Parametern und HVA-Konzentrationen im Striatum sowie MOPEG-SO_4-Konzentrationen im Kortex der isolierten Rattenhirne.

EEG-Parameter	HVA-Gehalt (Striatum)	MOPEG-SO_4-Gehalt (Kortex)
Standardamplitude	+ 0,323	+ 0,041
Schiefe	+ 0,573 $^{+++}$	- 0,088
Wölbung	+ 0,573 $^{+++}$	+ 0,062
Beta %	- 0,304	- 0,336 $^{+}$
Theta %	+ 0,225	+ 0,236
Delta %	+ 0,379 $^{+}$	+ 0,324

Die Werte sind als Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman angegeben. Die EEG-Parameter wurden nach 20 Minuten Perfusion berechnet. HVA- und MOPEG-SO_4-Konzentrationen wurden nach Beendigung der Perfusionen gemessen (30 Minuten Perfusion). Die Daten aller Perfusionsexperimente (Kontrollperfusionen und mit Pharmakon durchgeführte Perfusionen) wurden zur Errechnung der Koeffizienten herangezogen. Statistisch signifikante Unterschiede: +++ $p < 0,001$; + $p < 0,05$.

Tabelle 11 : Multiple paarweise Vergleiche verschiedener EEG-Parameter

	Standard-amplitude	Schiefe	Wölbung	Frequenzbänder beta	alpha	theta	delta
Kontrolle gegen CPZ	↑↑	(↑)	↑↑	↓	n.s.	n.s.	(↑)
Kontrolle gegen CPZ-NO	↑↑	↑↑	↑↑	↓	n.s.	↑	↑
Kontrolle gegen NOR_1-CPZ	↑	n.s.	(↑)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Kontrolle gegen NOR_2-CPZ	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Die Signifikanz der Unterschiede wurde nach der Methode Nemenyi errechnet:
↑↑ $p<0,01$; ↑ $p<0,05$; (↑) $p<0,1$ (Tendenz); n.s. = nicht signifikant.
Den Signifikanzberechnungen wurden die EEG Meßwerte der 2. Perfusionsperiode (20 Minuten nach Perfusionsbeginn) zugrundegelegt. Die Pfeilrichtung gibt die Richtung der Veränderungen an.

Es bestand ein hochsignifikanter Zusammenhang zwischen den Werten für Schiefe und Wölbung ($p < 0{,}001$) sowie dem Anteil der delta-Frequenzen und den HVA-Veränderungen im Striatum. Andererseits war ein Zusammenhang zwischen dem Anteil der beta-Frequenzen und erniedrigten MOPEG-SO_4-Werten im Kortex zu erkennen.

3.3. Versuche mit CPZ und Ringmetaboliten

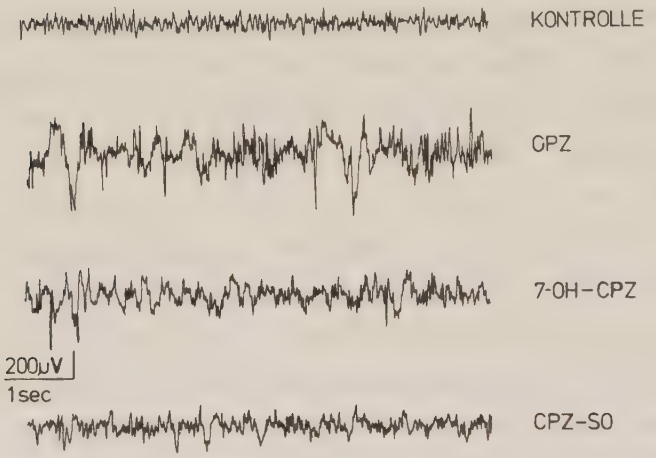
3.3.1. Effekte auf das EEG

In einer Reihe von orientierenden Versuchen wurden die verfügbaren Metaboliten im Hinblick auf ihre Wirkung auf das EEG des isolierten Gehirns untersucht. Die Versuche wurden mit einer Pharmakonzentration von 10 µM im Medium durchgeführt. Die Perfusionszeit war auf 60 Minuten begrenzt.

Bei der gewählten Konzentration von 10 µM zeigten die Metaboliten 7-OH-NOR_1-CPZ und 3,7-diOH-CPZ keine EEG-Veränderungen. Dezente EEG-Ereignisse wie gelegentliche Spitzenentladungen oder auch langsame Wellen waren sowohl unter CPZ-SO, als auch unter 8-OH-CPZ-Behandlung zu erkennen. Perfusion der Gehirne mit 10 µM 7-OH-CPZ erzeugte ein unregelmäßiges EEG (Abbildung 13). Ebenso traten die bekannten EEG-Phänomene wie Spikes, steile und langsame Wellen oder auch Wellengruppen deutlich in Erscheinung. Die auftretenden EEG-Veränderungen waren innerhalb der ersten 30 Minuten Perfusion am deutlichsten.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung der Perfusionsmedien nach erfolgter Perfusion ergab nur eine unwesentliche Metabolisierung der applizierten Pharmaka. Neben den eingesetzten Pharmaka konnten geringe Mengen (ca. 10 % der Ausgangsverbindungen) eines Zersetzungsproduktes nachgewiesen werden. Aufgrund von in der Literatur angegebenen Rf-Werten (Chan u. Gershon, 1973) ist es wahrscheinlich, daß es sich hierbei um die Sulfoxide der jeweiligen Ausgangsverbindungen handelt.

Abbildung 13 : Der Einfluß von CPZ und verschiedenen Metaboliten auf das EEG des isolierten Rattenhirns.



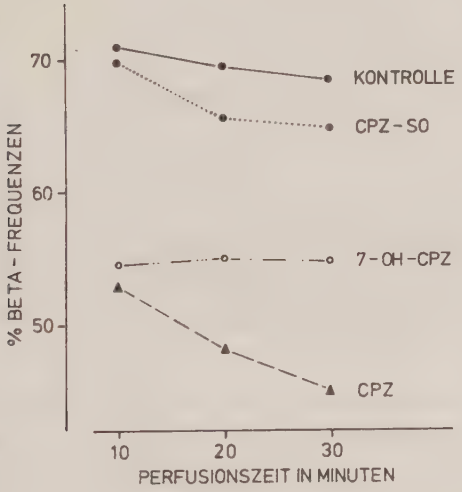
In der Abbildung ist jeweils eine der in der Regel symmetrischen und synchronen EEG-Kurven nach 20 Minuten Perfusion dargestellt. Die Konzentration der Pharmaka im Medium betrug 10 µM. Kontroll-EEGs wurden ohne Zusatz eines Pharmakons zum Perfusionsmedium erhalten.

In der nachfolgenden Versuchsserie wurden die Wirkungen von CPZ, 7-OH-CPZ und CPZ-SO in jeweils 7 Perfusionsexperimenten untersucht und quantitativ analysiert. Kontrollperfusionen ohne Pharmaka im Medium wurden ebenfalls durchgeführt.

Intervallhistographie

Die Ergebnisse der Intervallhistographie sind in den Abbildungen 14 und 15 sowie der Tabelle 12 dargestellt. Unter dem Einfluß von CPZ kam es wiederum zu einer signifikanten Abnahme der schnellen beta-Frequenzen und auf der anderen Seite zu einer Zunahme langsamer Frequenzen aus dem theta- und delta-Bereich. Die Effekte sind gut mit denen der ersten Perfusionsserie vergleichbar (siehe 3.2.1.). Ähnliche EEG-Veränderungen, jedoch schwächer ausgeprägt, konnten bei den

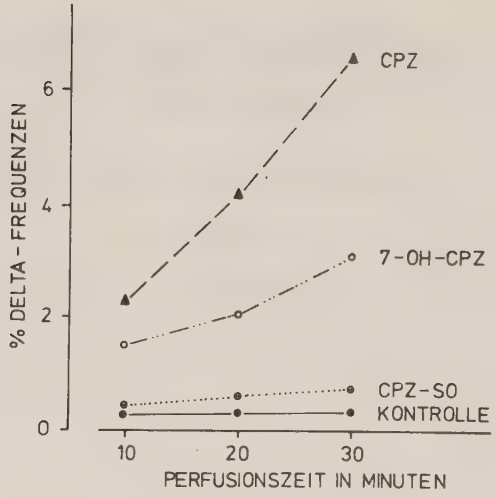
Abbildung 14 : Der Einfluß von CPZ und CPZ-Metaboliten auf den Anteil der beta-Frequenzen im EEG.



Die Markierungspunkte geben die Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen wieder. Der besseren Übersicht wegen sind die Streuungsangaben in der Graphik weggelassen. Statistisch signifikante Unterschiede sind in der Tabelle 14 angegeben.

mit 7-OH-CPZ durchgeführten Experimenten festgestellt werden. Der alpha-Frequenzanteil blieb unter dem Einfluß beider Pharmaka unverändert. In keinem der vier Frequenzbereiche konnten unter der Einwirkung von CPZ-SO signifikante Veränderungen gegenüber den Kontrollversuchen gezeigt werden.

Abbildung 15 : Der Einfluß von CPZ und CPZ-Metaboliten auf den Anteil der delta-Frequenzen im EEG.



Die Markierungspunkte stellen Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen dar. Der besseren Übersicht wegen sind die Streuungsangaben in der Graphik weggelassen. Statistische Vergleiche siehe Tabelle 14.

Tabelle 12 : Der Einfluß von CPZ und verschiedenen Metaboliten auf den Anteil der alpha- und theta-Frequenzen des EEGs

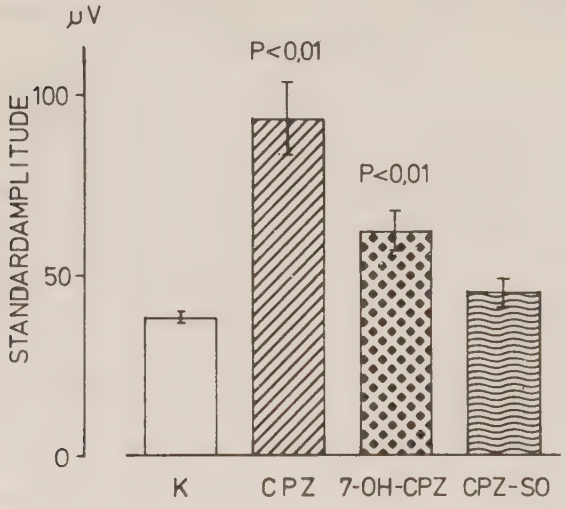
	Anteil der Frequenzen in %	
	Perfusionszeit: 10 min	
	alpha	theta
Kontrolle	20,15 ± 1,10	8,43 ± 1,97
CPZ	22,75 ± 0,85	22,03 ± 1,86
7-OH-CPZ	23,94 ± 1,13	19,98 ± 2,89
CPZ-SO	19,76 ± 1,45	10,04 ± 2,58
	Perfusionszeit: 20 min	
	alpha	theta
Kontrolle	21,42 ± 1,14	8,52 ± 1,63
CPZ	22,03 ± 0,64	25,80 ± 2,64
7-OH-CPZ	22,93 ± 0,60	20,05 ± 2,48
CPZ-SO	21,10 ± 1,10	12,70 ± 3,32
	Perfusionszeit: 30 min	
	alpha	theta
Kontrolle	20,71 ± 0,74	10,38 ± 1,77
CPZ	20,93 ± 0,30	27,56 ± 2,04
7-OH-CPZ	20,67 ± 0,72	21,35 ± 3,10
CPZ-SO	21,90 ± 0,91	12,53 ± 2,80

Die angegebenen Werte wurden aus den Daten der Intervallhistographie errechnet und sind als Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen angegeben. Die EEG-Aufzeichnungen wurden 10, 20 und 30 Minuten nach Perfusionsbeginn gemacht. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Amplitudenhistographie

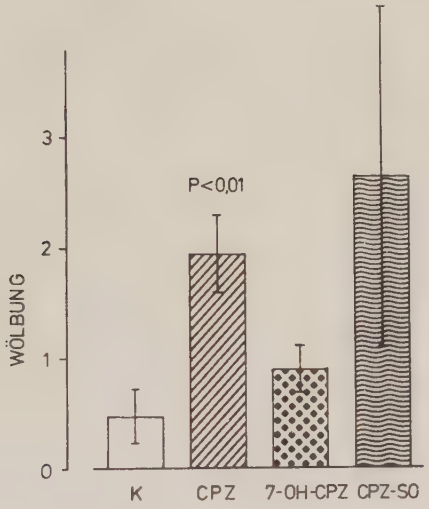
Die Auswirkungen der Substanzen auf die wichtigsten Meßparameter der Amplitudenhistographie verdeutlichen die Abbildungen 16, 17 und Tabelle 13. Die Veränderungen der Standardamplitude waren am besten geeignet, die Unterschiede zwischen den Substanzen herauszuarbeiten. Unter CPZ-Behandlung war die

Abbildung 16 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf die Standardamplitude des EEGs.



Die Standardamplitude wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (2. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode errechnet. Die Säulen stellen die Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen dar. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Signifikante Veränderungen gegenüber den perfundierten Kontrollen sind über den Säulen angegeben.

Abbildung 17 : Die Beeinflussung des Wölbungsmaßes durch CPZ und einige seiner Metaboliten.



Das Wölbungsmaß wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (4. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode errechnet. Die Säulen stellen Mittelwerte dar. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Signifikante Veränderungen gegenüber den Kontrollen sind über den Säulen angegeben. Anzahl der Versuche n = 7.

durchschnittliche Standardamplitude um mehr als das doppelte erhöht. Nicht ganz so deutlich - statistisch aber noch signifikant - war die Erhöhung unter dem Einfluß von 7-OH-CPZ, während in den Versuchen mit CPZ-SO dieser Parameter kaum mehr beeinflußt war. Auch das Wölbungsmaß erwies sich wiederum als guter Parameter zur Charakterisierung der untersuchten Pharmaka, wenngleich die Unterschiede nicht so deutlich wie in der

Tabelle 13 : Der Einfluß von CPZ und CPZ-Metaboliten auf verschiedene Meßwerte des Amplitudenhistogramms

Pharmakon	Standard-amplitude (μV)	Schiefe	Wölbung
Kontrolle	38,3 ± 1,3	0,099 ± 0,068	0,476 ± 0,242
CPZ	93,5 ± 9,8	0,259 ± 0,071	1,937 ± 0,339
7-OH-CPZ	61,8 ± 5,6	0,139 ± 0,046	0,903 ± 0,222
CPZ-SO	45,0 ± 3,8	0,304 ± 0,121	2,651 ± 1,558

Die Maße der Standardamplitude, Schiefe und Wölbung wurden aus den Daten der Amplitudenhistographie errechnet (2., 3. und 4. zentrales Moment). Die Angaben beziehen sich auf die 2. Perfusionsperiode (20 Minuten nach Perfusionsbeginn) und sind Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Statistische Vergleiche siehe Tabelle 14.

vorangegangenen Perfusionsserie hervortraten (vergleiche 3.2.1.). Die höchsten Werte wurden unter der Behandlung mit CPZ und CPZ-SO gemessen. Der Einfluß von 7-OH-CPZ auf diese Meßgröße war nur gering. Die Streuung der Einzelwerte innerhalb der CPZ-SO Versuchsgruppe war ungewöhnlich hoch und ist auf das Vorkommen isolierter Spikes in einigen Versuchen, auf welche das Wölbungsmaß sehr empfindlich reagiert, zurückzuführen.

Die statistischen Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen sind für alle EEG-Parameter nochmals in Tabelle 14 zusammengefaßt.

Tabelle 14 : Multiple paarweise Vergleiche der verschiedenen EEG-Parameter

	Standard-amplitude	Schiefe	Wölbung	Frequenzbänder beta	alpha	theta	delta
Kontrolle gegen CPZ	↑↑	n.s.	↑	↑↑	n.s.	↑↑	↑↑
Kontrolle gegen 7-OH-CPZ	↑	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	(↑)	n.s.
Kontrolle gegen CPZ-SO	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Die zweiseitigen Vergleiche wurden nach der Methode Nemenyi berechnet. Statistisch signifikante Unterschiede: ↑↑ $p < 0,01$; ↑ $p < 0,05$; (↑) $p < 0,1$ (Tendenz); n.s. = nicht signifikant. Den Berechnungen wurden die EEG-Meßwerte der 2. Perfusionsperiode (20 Minuten nach Perfusionsbeginn) zugrundegelegt. Die Pfeilrichtung weist auf die Richtung der Veränderungen hin.

3.3.2. Effekte auf den HVA-Gehalt des Corpus striatum

Die Wirkung von CPZ und seinen beiden Metaboliten 7-OH-CPZ und CPZ-SO auf den HVA-Gehalt im Corpus striatum der isolierten Gehirne ist in Tabelle 15 wiedergegeben.

Tabelle 15 : HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne nach Perfusion von CPZ und einigen seiner Metaboliten.

Pharmakon	HVA-Gehalt (Striatum)
$Kontrolle_{in\ vivo}$	0,336 ± 0,064
$Kontrolle_{perfundiert}$	0,385 ± 0,062
CPZ	0,581 ± 0,100 $^{+++}$
7-OH-CPZ	0,439 ± 0,154 $^{+}$
CPZ-SO	0,425 ± 0,061

Die Pharmaka wurden im Perfusionsmedium in einer Konzentration von 10 µM gelöst. Perfundierte Kontrollversuche wurden ohne Pharmakonzugabe durchgeführt. Die Perfusionszeit betrug 30 Minuten. In-vivo-Kontrollen sind Gehirne unbehandelter Tiere, welche durch Dekaptieren getötet wurden. Alle Striata wurden bei -80 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht).
Anzahl der Versuche: n = 7
Statistisch signifikante Veränderungen (U-Test) gegenüber der perfundierten Kontrolle: +++ $p < 0{,}001$; + $p < 0{,}05$.

Nach 30 Minuten Perfusion mit CPZ im Medium wurden im Striatum signifikant erhöhte HVA-Werte gemessen. Bei Perfusionen, welche mit 7-OH-CPZ durchgeführt wurden, stieg der HVA-Gehalt ebenfalls an. Insgesamt war der Anstieg jedoch geringer als unter CPZ. Die Perfusionsversuche mit CPZ-SO im Medium beeinflußten den HVA-Gehalt im Striatum kaum.

3.3.3. Effekte auf den MOPEG-SO_4-Gehalt in verschiedenen Hirnstrukturen

Die Wirkung der untersuchten Pharmaka auf den MOPEG-SO_4-Gehalt in einzelnen Regionen des isolierten Gehirns ist in Tabelle 16 wiedergegeben.

Nach 30minütiger Perfusion kam es ohne Zugabe eines Pharmakons zum Perfusionsmedium zu einem signifikanten Anstieg der MOPEG-SO_4-Konzentrationen in allen untersuchten Hirnstrukturen. Darüberhinaus kam es unter dem Einfluß von CPZ im Hypothalamus zu einem weiteren Anstieg des MOPEG-SO_4-Gehaltes ($p < 0,05$ gegenüber den perfundierten Kontrollen). Experimente mit dem 7-OH-CPZ-Metaboliten führten zu einer signifikanten Erniedrigung des MOPEG-SO_4-Gehaltes in der Medulla oblongata. Der MOPEG-SO_4-Gehalt im Mittelhirn wurde durch keine der untersuchten Pharmaka verändert.

Tabelle 16 : MOPEG-SO_4-Konzentrationen in verschiedenen Strukturen des isolierten Gehirns unter dem Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten.

Pharmakon	Medulla oblongata	Mittelhirn	Hypothalamus
$Kontrolle_{in\ vivo}$	0,182 ± 0,029 ++	0,131 ± 0,015++	0,182 ± 0,038++
$Kontrolle_{perf.}$	0,242 ± 0,028	0,187 ± 0,021	0,257 ± 0,034
CPZ	0,217 ± 0,022	0,184 ± 0,012	0,313 ± 0,043+
7-OH-CPZ	0,199 ± 0,031 +	0,187 ± 0,036	0,292 ± 0,038
CPZ-SO	0,215 ± 0,024	0,178 ± 0,010	0,267 ± 0,052

Konzentration der Pharmaka im Perfusionsmedium: 10 µM. Perfundierte Kontrollen wurden ohne Zugabe eines Pharmakons zum Medium durchgeführt. Perfusionszeit: 30 Minuten. In-vivo-Kontrollen sind Gehirne unbehandelter dekaptierter Ratten. Alle Strukturen wurden bei -80 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht). Anzahl der Versuche: n = 7. Statistisch signifikante Veränderungen gegenüber den perfundierten Kontrollen wurden mit dem U-Test geprüft:
++ $p < 0,01$; + $p < 0,05$.

3.3.4. Korrelation der EEG-Effekte mit den biochemischen Meßwerten

Der Zusammenhang zwischen EEG-Effekten und HVA-Veränderungen im Striatum wird aus den in der Tabelle 17 angegebenen Korrelationskoeffizienten deutlich.

Tabelle 17 : Korrelationen zwischen EEG-Parametern und HVA-Konzentrationen im Striatum der perfundierten Rattenhirne

EEG-Parameter	HVA-Gehalt (Striatum)
Standardamplitude	+ 0,757 $^{+++}$
Schiefe	- 0,012
Wölbung	+ 0,276
Beta %	- 0,531 $^{++}$
Alpha %	- 0,025
Theta %	+ 0,552 $^{++}$
Delta %	+ 0,583 $^{++}$

Die Werte sind als Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman angegeben. Den EEG-Daten liegen die EEG-Aufzeichnungen nach 20 Minuten Perfusion zugrunde. Der HVA-Gehalt im Striatum wurde nach Beendigung der Perfusion gemessen (30 Minuten Perfusion). Die Daten aller Perfusionsexperimente (Kontrollperfusion und Perfusion mit Pharmaka) wurden zur Errechnung der Koeffizienten herangezogen. Statistisch signifikante Unterschiede:
+++ $p < 0,001$; ++ $p < 0,01$.

Die hohen Korrelationskoeffizienten für Standardamplitude, den Anteilen der theta- und delta-Frequenzen bedeuten, daß bei den Versuchen, bei denen ein hoher HVA-Wert im Striatum gemessen wurde, im EEG vermehrt langsame Frequenzen auftraten. Die Standardamplitude war bei diesen Experimenten ebenfalls stark erhöht. Damit in Zusammenhang stand die Abnahme des Anteils an raschen beta-Frequenzen bei hohen HVA-Werten (negative Korrelation).

3.4. Der Einfluß verschiedener CPZ-Konzentrationen im Fluorcarbon-Medium auf das EEG

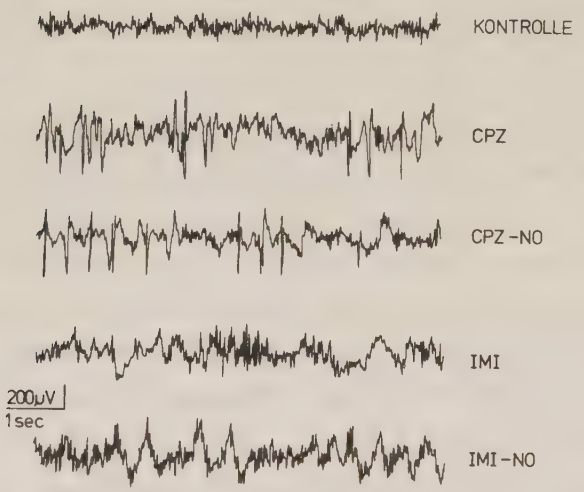
Bei den bisherigen Experimenten hatte sich eine Konzentration von 10 µM im Perfusionsmedium (Erythrozyten) als günstig erwiesen, die Pharmaka anhand ihrer EEG-Effekte zu charakterisieren. Ob diese Konzentration bei Verwendung der synthetischen Fluorcarbon-Emulsion als Perfusionsmedium ebenfalls optimal war, wurde in einigen orientierenden Versuchen mit unterschiedlichen CPZ-Konzentrationen (1 µM, 5 µM und 10 µM) untersucht. Die Wirkung auf das EEG wurde über eine Perfusionszeit von 60 Minuten kontinuierlich beobachtet. Schon eine Konzentration von 5 µM CPZ im Fluorcarbon-Medium bewirkte deutliche EEG-Veränderungen. Bei dieser CPZ-Konzentration waren unter Verwendung des erythrozytenhaltigen Perfusionsmediums noch keine EEG-Effekte nachweisbar (siehe Abbildung 7).

3.5. Versuche mit CPZ und Imipramin sowie deren N-Oxid-Metaboliten

3.5.1. Effekte auf das EEG

Die auftretenden EEG-Veränderungen unter dem Einfluß der Pharmaka in einer Konzentration von 5 µM sind in Abbildung 18 zu sehen. Die EEGs der Kontrolltiere waren gekennzeichnet von vorwiegend schneller beta-Aktivität. Die mit Pharmaka behandelten Gehirne zeigten jeweils für CPZ, CPZ-NO und Imipramin, Imipramin-NO charakteristische EEG-Merkmale. Unter CPZ und CPZ-NO kam es vermehrt zu Spitzenentladungen und Gruppen von

Abbildung 18 : Der Einfluß von CPZ, Imipramin und deren N-Oxid-Metaboliten auf das EEG des isolierten Rattenhirns.



Die Abbildung zeigt jeweils eine der in der Regel symmetrischen und synchronen EEGs nach 20 Minuten Perfusion. Die Pharmaka wurden vor Versuchsbeginn im Perfusionsmedium (Fluorcarbon-Emulsion) in einer Konzentration von 5 µM gelöst. Zum Vergleich ist das EEG eines Kontrollversuchs wiedergegeben, der ohne Pharmakonzusatz zum Perfusionsmedium durchgeführt wurde.

scharfen Wellen sowie zur Ausprägung langsamer Wellen. Bei Perfusion von Imipramin und Imipramin-NO beherrschten die schnellen Frequenzen aus dem beta-Bereich das EEG-Bild oft überlagert von langen Wellen aus dem theta- und delta-Bereich, während Spitzenentladungen nur gelegentlich auftraten. 15 - 20 Minuten nach Perfusionsbeginn kam es bei einigen Versuchen zur

Ausbildung von charakteristischen Wellenmustern (Abbildung 18). Zwischen den Muttersubstanzen und ihren jeweiligen N-Oxid-Metaboliten waren keine grundlegenden Unterschiede festzustellen. Die EEG-Effekte der N-Oxid-Verbindungen waren jedoch schwächer ausgeprägt als die der Muttersubstanzen.

Intervallhistographie

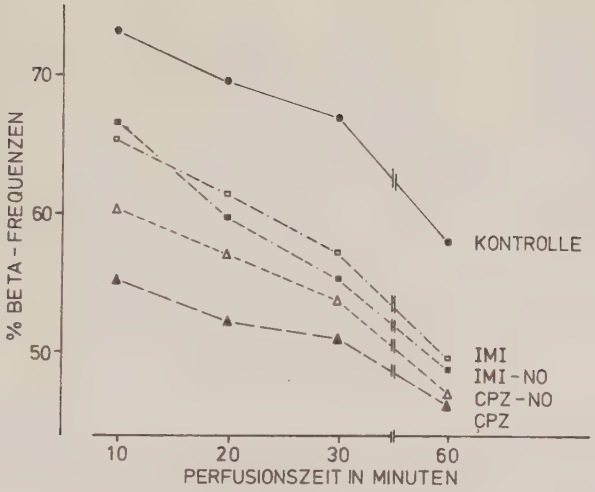
Die Ergebnisse der Intervallhistographie sind in der Tabelle 18 und in den Abbildungen 19 und 20 dargestellt. Daraus ist zu ersehen, daß es unter dem Einfluß aller vier Pharmaka zu einem mehr oder weniger starken Anstieg langsamer Frequenzanteile und einem Abfall der schnellen Frequenzanteile kam. Der alpha-Anteil blieb - wie schon in den vorangegangenen Perfusionsserien beobachtet - praktisch unverändert. Der prozentuale Anteil der beta-Frequenzen war bei den mit Imipramin und Imipramin-NO perfundierten Gehirnen höher als bei den mit CPZ bzw. CPZ-NO perfundierten. Die langsamen Frequenzen wurden von den beiden Substanzpaaren entgegengesetzt beeinflußt. Bei der Betrachtung des Zeitverlaufs wurde wiederum deutlich, daß sich 20 Minuten nach Perfusionsbeginn alle wesentlichen EEG-Veränderungen ausgebildet hatten. Der weitere Zeitverlauf ergab lediglich eine allgemeine Verlangsamung aller EEGs.

Tabelle 18 : Der Einfluß von CPZ, IMI und deren N-Oxid-Metaboliten auf den Anteil der alpha- und theta-Frequenzen des EEGs.

	Anteil der Frequenzen in %			
	Perfusionszeit: 10 min		Perfusionszeit: 20 min	
	alpha	theta	alpha	theta
Kontrolle	18,03 ± 1,47	8,62 ± 1,37	20,10 ± 1,66	9,78 ± 1,02
CPZ	21,82 ± 0,64	19,98 ± 1,81	20,89 ± 0,72	23,03 ± 2,04
CPZ-NO	18,77 ± 0,93	19,11 ± 2,75	20,36 ± 0,83	19,96 ± 2,22
IMI	18,08 ± 1,05	14,10 ± 2,05	18,52 ± 0,82	16,57 ± 2,16
IMI-NO	18,86 ± 1,09	13,41 ± 1,57	20,02 ± 0,58	18,20 ± 2,12
	Perfusionszeit: 30 min		Perfusionszeit: 60 min	
	alpha	theta	alpha	theta
Kontrolle	21,16 ± 1,50	11,14 ± 1,16	25,47 ± 2,02	15,46 ± 1,63
CPZ	21,61 ± 0,95	23,40 ± 1,88	22,09 ± 0,81	25,96 ± 1,76
CPZ-NO	21,50 ± 0,96	21,43 ± 2,77	22,88 ± 1,14	25,12 ± 1,99
IMI	19,75 ± 0,76	18,33 ± 2,31	20,32 ± 0,71	22,64 ± 2,09
IMI-NO	20,98 ± 0,99	20,54 ± 3,06	21,65 ± 1,11	23,83 ± 3,15

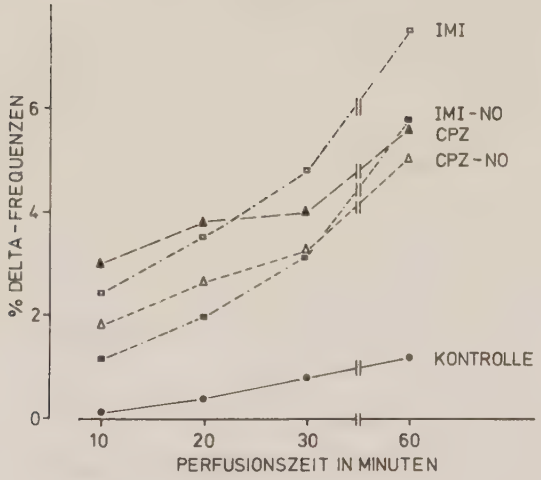
Die in der Tabelle angegebenen Werte wurden aus den Daten der Intervallhistographie berechnet und sind als Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen angegeben. Die den Berechnungen zugrundeliegenden EEG-Aufzeichnungen wurden 10, 20, 30 und 60 Minuten nach Beginn der Perfusionen gemacht. Streuungsangaben sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$). Statistische Vergleiche siehe Tabelle 19.

Abbildung 19 : Der Einfluß von CPZ, IMI und ihren N-Oxid-Metaboliten auf den Anteil der beta-Frequenzen.



Die Markierungspunkte geben die Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen wieder. Analysezeiten waren 10, 20, 30 und 60 Minuten nach Beginn der Perfusionen. Streuungsangaben sind in der Graphik der besseren Übersicht wegen weggelassen. Statistisch signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen sind in Tabelle 19 wiedergegeben.

Abbildung 20 : Der Einfluß von CPZ, IMI und deren Metaboliten auf den Anteil der delta-Frequenzen im EEG.



Die Markierungspunkte stellen Mittelwerte aus 7 Perfusionsexperimenten dar. Streuungsangaben sind weggelassen. Statistische Vergleiche siehe Tabelle 19.

Amplitudenhistographie

In welcher Weise die Pharmaka die Parameter des Amplitudenhistogramms beeinflussen, wird aus der Tabelle 19 und den Abbildungen 21 und 22 deutlich. Perfusion der Gehirne mit CPZ und auch mit CPZ-NO führte zu einem signifikanten Anstieg der Standardamplituden- und Wölbungsmaße. Die Schiefewerte waren ebenfalls erhöht. Wegen der hohen Streuung der Einzelwerte bei den CPZ-NO-Versuchen war diese Erhöhung

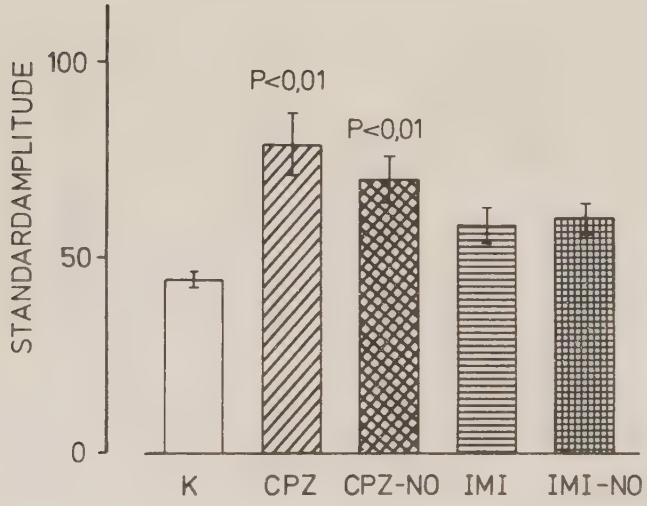
Tabelle 19 : Der Einfluß von CPZ, IMI und ihren N-Oxid-Metaboliten auf verschiedene Meßwerte des Amplitudenhistogramms

Pharmakon	Standard-amplitude (µV)	Schiefe	Wölbung
Kontrolle	43,6 ± 1,9	0,078 ± 0,021	0,238 ± 0,078
CPZ	79,0 ± 7,5	0,355 ± 0,188	2,339 ± 0,825
CPZ-NO	70,1 ± 5,8	0,349 ± 0,090	2,082 ± 0,505
IMI	58,5 ± 4,6	0,115 ± 0,037	0,560 ± 0,179
IMI-NO	60,6 ± 4,1	0,146 ± 0,033	0,301 ± 0,084

Die Maße wurden aus den Daten der Amplitudenhistographie berechnet (2., 3. und 4. zentrales Moment). Die Angaben beziehen sich auf die 2. Perfusionsperiode (20 min nach Perfusionsbeginn) und stellen Mittelwerte aus 7 Perfusionsversuchen dar. Streuungsangaben sind als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ angegeben. Statistische Vergleiche siehe Tabelle 20.

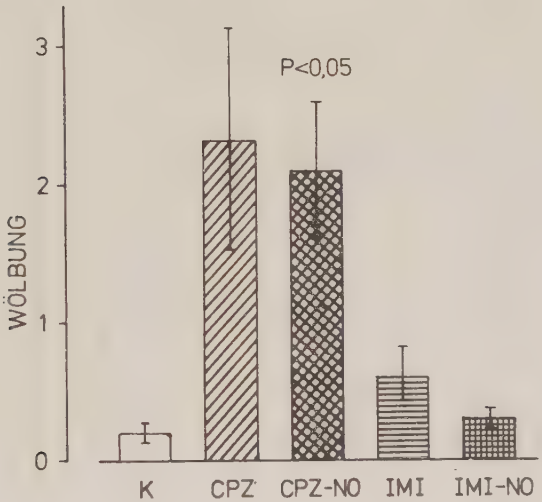
jedoch nicht mehr signifikant. Unter dem Einfluß von IMI war nur der Anteil der delta-Frequenzen erhöht. Unter IMI-NO war keiner der EEG-Parameter signifikant verändert. Hier kam es lediglich zu einem leichten Anstieg der Standardamplitudenwerte. Die statistischen Unterschiede der EEG-Parameter zwischen den Versuchsreihen sind in der Tabelle 20 nochmals übersichtlich zusammengestellt.

Abbildung 21 : Der Einfluß von CPZ, Imipramin und ihren N-Oxid-Metaboliten auf die Standardamplitude des EEGs



Die Standardamplitude wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (2. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode errechnet. Die Säulen stellen Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen dar. Streuungen sind als mittlerer Fehler des Mittelwertes angegeben. Signifikante Veränderungen gegenüber den perfundierten Kontrollen sind über den Säulen angegeben (siehe auch Tabelle 20).

Abbildung 22 : Die Beeinflussung des Wölbungsmaßes durch CPZ, IMI und deren N-Oxid-Metaboliten



Das Wölbungsmaß wurde aus den Daten der Amplitudenhistographie (4. zentrales Moment) der 2. Perfusionsperiode berechnet. Die Säulen stellen Mittelwerte dar. Streuungsangaben sind als $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$ angegeben. Signifikante Veränderungen gegenüber den Kontrollen sind über den Säulen angegeben. Anzahl der Experimente n = 7.

Tabelle 20 : Multiple paarweise Vergleiche der verschiedenen EEG-Parameter.

	Standard-amplitude	Schiefe	Wölbung	Frequenzbänder beta	alpha	theta	delta
Kontrolle gegen CPZ	↑↑	↑	(↑)	↓↓	n.s.	↑↑	↑↑
Kontrolle gegen CPZ-NO	↑↑	n.s.	↑	(↓)	n.s.	↑	(↑)
Kontrolle gegen IMI	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑
Kontrolle gegen IMI-NO	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

Den Signifikanzberechnungen lagen die EEG-Meßwerte der 2. Perfusionsperiode (20 Minuten nach Beginn der Perfusion) zugrunde. Die Unterschiede wurden nach der Methode von Nemenyi berechnet: ↑↑ $p < 0,01$; ↑ $p < 0,05$; (↑) $p < 0,1$ (Tendenz); n.s. = nicht signifikant. Die Pfeilrichtung gibt die Richtung der Veränderungen an.

3.5.2. Effekte auf den HVA-Gehalt im Corpus striatum

Die Wirkung der untersuchten Pharmaka und deren N-Oxid-Metaboliten auf den HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne verdeutlicht die Tabelle 21.

Tabelle 21 : Der Einfluß von CPZ, IMI und deren Metaboliten auf die HVA-Konzentration im Striatum der isolierten Rattenhirne.

Pharmakon	Striatum HVA (µg/g)
Kontrolle	0,478 ± 0,060
CPZ	0,758 ± 0,160 $^{+++}$
CPZ-NO	0,868 ± 0,138 $^{+++}$
IMI	0,507 ± 0,121
IMI-NO	0,523 ± 0,074

Die Pharmaka wurden im Perfusionsmedium (Fluorcarbon-Emulsion) in einer Konzentration von 5 µM gelöst. Kontrollversuche wurden ohne Zugabe von Pharmaka zum Perfusionsmedium durchgeführt. Die Perfusionszeit betrug 60 Minuten. Alle Striata wurden bei -80 °C bis zur Aufarbeitung gelagert. Statistisch signifikante Veränderungen gegenüber der Kontrollreihe wurden mit dem U-Test festgestellt: +++ $p < 0,001$. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$ in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht). Anzahl der Experimente n = 7.

Nach 60 Minuten Perfusion kam es sowohl unter Einwirkung von CPZ als auch seines N-Oxid-Metaboliten zu einem signifikanten Anstieg des HVA-Gehaltes im Striatum. Der Anstieg war unter CPZ-NO stärker ausgeprägt als unter CPZ. Imipramin und sein Metabolit Imipramin-NO beeinflußten den HVA-Gehalt dagegen nicht. Somit erwies sich dieser Parameter zwar als geeignet zwischen Imipramin, Imipramin-NO einerseits und CPZ, CPZ-NO andererseits zu differenzieren, er war jedoch ungeeignet zwischen Muttersubstanzen und ihren N-Oxid-Metaboliten zu unterscheiden.

3.5.3. Metabolisierung der Pharmaka im Fluorcarbon-Medium

In Anbetracht der großen Oberfläche des Fluorcarbon-Perfusionsmediums (100 ml Medium hat eine Oberfläche von ca. 800 m^2) und des hohen Sauerstoffpartialdruckes war zu vermuten, daß im Medium gelöstes CPZ in vermehrtem Ausmaß der Oxydation unterliegen würde. Aus diesem Grunde wurde die Oxydation des CPZ in Abhängigkeit von der Zeit untersucht (Tabelle 22). Aus der Tabelle geht hervor, daß die Oxydation bedingt durch die Aufarbeitungsmethode mit 12 % ganz erheblich war. Nach 12 h war neben dem Oxydationsprodukt CPZ-SO auch CPZ-NO nachzuweisen. Mit zunehmender Einwirkungszeit verschlechterte sich das Verhältnis von unverändertem CPZ zu seinen oxygenierten Metaboliten zunehmend. Nach 48 h waren 31 % der insgesamt wiedergefundenen Phenothiazine als Oxydationsprodukte nachweisbar. Innerhalb dieses Zeitraumes

Tabelle 22 : Zersetzung von CPZ in der Fluorcarbon-Emulsion in Abhängigkeit von der Zeit.

Zeit	Pharmaka (nmol) CPZ	CPZ-SO	CPZ-NO	Summe der Phenothiazine	Summe in %
0 h	140	20	0	160	80
6 h	140	28	0	168	84
12 h	132	18	16	166	83
24 h	142	22	18	182	91
48 h	118	22	32	172	86

1 µMol CPZ wurde in 100 ml nichtoxygeniertem Fluorcarbon-Medium gelöst und unter Lichtausschluß stehengelassen. Zu den angegebenen Zeiten wurde der Gehalt von CPZ und seinen Metaboliten in 20,0 ml Medium wie unter 2.4.4. beschrieben bestimmt. Den Werten liegt jeweils nur eine Bestimmung zugrunde.

konnte kein CPZ-NO-SO in meßbaren Mengen nachgewiesen werden. Die Untersuchungen machten deutlich, daß die Oxydation am Phenothiazin-Schwefelatom sehr rasch abläuft, während die Oxydation am tertiären Stickstoff der aliphatischen Seitenkette erheblich langsamer eintritt. Es war anzunehmen, daß die Oxydation am tertiären Stickstoff unter den Bedingungen der Perfusion nicht stattfindet.

Die dünnschichtchromatographische Untersuchung des Perfusionsmediums nach 60 Minuten Perfusion mit 10 µM Imipramin bzw. Imipramin-NO ergaben keinen Anhaltspunkt für eine Veränderung der eingesetzten Pharmaka. Sowohl Imipramin als auch Imipramin-NO waren nach Durchführung der Perfusionen unverändert im Medium nachzuweisen. Im Gegensatz hierzu unterlag CPZ in verstärktem Ausmaß der Oxydation (Tabelle 23). Während der Aufarbeitung wurden wiederum 12 % der insgesamt wiedergefundenen Phenothiazine zum CPZ-SO oxydiert. Nach 60 min Rezirkulation in der Perfusionsapparatur hatte sich der Anteil des CPZ-SO schon annähernd verdoppelt. Weiterhin wird aus der Tabelle deutlich, daß ein erheblicher Anteil (über 30 %) des im Medium gelösten CPZ an die Bestandteile der Perfusionsapparatur (Glas, Schlauchverbindungen, Perfusionskatheter) adsorbiert wurde. Nach Perfusion der isolierten Gehirne war der CPZ-Gehalt durch Aufnahme ins Gehirn weiter verringert, während der Anteil des CPZ-SO sich noch erhöhte. Unter den Perfusionsbedingungen war jedoch zu keinem Zeitpunkt CPZ-NO nachweisbar.

Ein vergleichbares Metabolitenmuster wurde nach Perfusion der isolierten Gehirne mit 10 µM CPZ-NO (Tabelle 23) erhalten. Das Ausmaß der Oxydation war dem unter CPZ-Behandlung vergleichbar, ebenfalls der Anteil des Pharmakons, welcher während der einstündigen Perfusion in das isolierte Gehirn aufgenommen wurde. Die Adsorption an die Bestandteile der Perfusionsapparatur war deutlich geringer als das bei den Versuchen mit CPZ beobachtet worden war. CPZ war nur in Spuren

Tabelle 23 : Konzentrationen von CPZ und CPZ-NO sowie den Oxydationsprodukten im Fluorcarbon-Medium vor und nach Perfusion der isolierten Gehirne

	Konzentration der Pharmaka im Fluorcarbon-Medium (nmol/20 ml Medium)			
	zugesetzte Menge	ohne Rezirkulation (a)	nach 60 min Rezirkulation (b)	nach 60 min Perfusion (c)
CPZ	200	140 (2)	88 ± 11 (4)	58 ± 6 (4)
CPZ-SO	-	20 (2)	34 ± 9 (4)	44 ± 12 (4)
Summe	200	160 (2)	122 ± 18 (4)	102 ± 15 (4)
CPZ-NO	200	181 (2)	148 ± 34 (4)	121 ± 21 (4)
CPZ-NO-SO	-	45 (2)	64 ± 16 (4)	81 ± 21 (4)
Summe	200	226 (2)	212 ± 20 (4)	202 ± 12 (4)

CPZ bzw. CPZ-NO wurden in einer Konzentration von 10 µM im Fluorcarbon-Medium gelöst. Proben des Mediums (20,0 ml) wurden unmittelbar nach Bereitung des Mediums (a), nach 60 Minuten Rezirkulation in der Perfusionsapparatur (b) und nach Beendigung der Perfusion (c) (60 Minuten Perfusionszeit) dem Medium entnommen und wie unter 2.4.4. angegeben aufgearbeitet. Die Werte sind angegeben als $\bar{x} \pm s_x$. Anzahl der Einzelbestimmungen in Klammern.

im Perfusionsmedium nachzuweisen, welche weit unterhalb der Nachweisgrenze lagen und somit bei den Berechnungen nicht berücksichtigt wurden.

3.5.4. Vergleich der verschiedenen Perfusionsmedien anhand der verschiedenen EEG-Parameter

In der Tabelle 24 sind in einer Gegenüberstellung die EEG-Meßwerte des isolierten Gehirns, welche bei der Perfusion mit verschiedenen Perfusionsmedien gefunden wurden, zusammengestellt. Die Meßwerte der Kontrollen machen deutlich, daß die EEGs der mit einem erythrozytenhaltigen Medium perfundierten Gehirne sich in keinem Parameter wesentlich von den Gehirnen unterscheiden, welche mit Fluorcarbon-Medium perfundiert wurden. Zugabe von CPZ bewirkte ebenfalls bei beiden Medien nahezu identische Veränderungen bei allen Meßwerten. Dabei ist anzumerken, daß die Pharmakonkonzentration im Erythrozyten-Medium doppelt so hoch war wie die im Fluorcarbon-Medium.

3.5.5. Korrelation der EEG-Effekte mit den biochemischen Meßwerten.

Die hohen Korrelationskoeffizienten der Tabelle 25 für eine Reihe von EEG-Parametern belegen erneut in aller Deutlichkeit, daß zwischen auftretenden EEG-Veränderungen und HVA-Konzentrationen im Striatum enge Beziehungen bestehen.

Tabelle 24 : Vergleich der Perfusionsmedien

	Kontrolle (a)	
	Erythrozyten	Fluorcarbon
Beta %	69,74 ± 2,86	69,70 ± 1,66
Alpha %	21,42 ± 1,14	20,10 ± 1,66
Theta %	8,52 ± 1,63	9,78 ± 1,02
Delta %	0,32 ± 0,21	0,42 ± 0,11
Standard-amplitude	38,3 ± 1,3	43,6 ± 1,9
Schiefe	0,099 ± 0,068	0,078 ± 0,021
Wölbung	0,476 ± 0,242	0,238 ± 0,078
	CPZ (b)	
	Erythrozyten	Fluorcarbon
Beta %	47,97 ± 3,73	52,28 ± 2,66
Alpha %	22,03 ± 0,64	20,89 ± 0,78
Theta %	25,80 ± 2,64	23,03 ± 2,04
Delta %	4,19 ± 1,13	3,80 ± 0,87
Standard-amplitude	93,5 ± 9,8	79,0 ± 7,5
Schiefe	0,259 ± 0,071	0,335 ± 0,188
Wölbung	1,937 ± 0,339	2,339 ± 0,835

Gegenüberstellung der EEG-Parameter nach Perfusion der isolierten Gehirne mit erythrozytenhaltigem Perfusionsmedium bzw. Fluorcarbon-Perfusionsmedium:

(a) ohne Zugabe eines Pharmakons

(b) unter Zugabe von 5 µM CPZ zum Fluorcarbon-Medium bzw. 10 µM CPZ zum erythrozytenhaltigen Medium.

Bei der Durchführung der Versuche ist auf ausreichende Randomisierung geachtet worden. Die angegebenen Werte sind Mittelwerte aus jeweils 7 Perfusionsversuchen ($\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$).

Tabelle 25 : Korrelation der EEG-Parameter mit HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne.

EEG-Parameter	HVA-Gehalt (Striatum)
Standardamplitude	+ 0,522 $^{++}$
Schiefe	+ 0,386 $^{+}$
Wölbung	+ 0,608 $^{+++}$
Beta %	- 0,445 $^{++}$
Alpha %	+ 0,212
Theta %	+ 0,484 $^{++}$
Delta	+ 0,378 $^{++}$

Die Werte sind als Rang-Korrelationskoeffizienten nach Spearman angegeben. Die EEG-Parameter wurden nach 20minütiger Perfusion berechnet. HVA-Konzentrationen wurden nach Beendigung der Perfusion gemessen (30 Minuten Perfusion). Die Daten aller Perfusionsexperimente (Kontrollperfusionen und mit Pharmakon durchgeführte Perfusionen; n = 35) wurden zur Berechnung der Koeffizienten herangezogen. Statistisch signifikante Unterschiede: +++ $p < 0,001$; ++ $p < 0,01$; + $p < 0,05$.

Versuche mit hohen HVA-Werten zeichneten sich durch erhöhte Standardamplituden-, Schiefe- und Wölbungsmaße aus sowie einer allgemeinen Frequenzverlangsamung (hoher Anteil theta- und delta-Frequenzen, niedriger beta-Anteil). Am ausgeprägtesten waren diese Zusammenhänge zwischen dem Maß der Wölbung und den HVA-Werten ($p < 0,001$).

4. DISKUSSION

In den ersten durchgeführten Experimenten sollte geprüft werden, in welchen Konzentrationen die Pharmaka angewendet werden müssen, um im EEG deutiche Effekte aufzuzeigen. Dieses wurde anhand der visuellen EEG-Auswertung vorgenommen. Die Konzentration, bei der unter CPZ die deutlichsten EEG-Veränderungen zu beobachten waren, betrug 10 uM CPZ im Perfusionsmedium (siehe Abb. 7) und war damit in Übereinstimmung mit anderen am isolierten Gehirn durchgeführten Untersuchungen (Krieglstein u. Stock, 1973). Diese Konzentration lag oberhalb derjenigen, welche im Blut von Versuchstieren nach therapeutischer Dosierung entsprechender Psychopharmaka gemessen wurden (Wiesel et al., 1975; Wiesel u. Alfredsson, 1976).

Die EEG-Veränderungen des isolierten Gehirns unter CPZ-Behandlung waren in guter Übereinstimmung mit den in der Literatur beschriebenen Effekten und für die Klasse der Neuroleptika als typisch anzusehen. Es kam zu einem Anstieg langsamer Wellenanteile des theta- und delta-Bereiches sowie einem Abfall der beta-Frequenzen, während die Frequenzen des alpha-Bereichs weitgehend unverändert blieben. Zusätzlich kam es zu einem Anstieg der Amplitude und zu gehäuftem Auftreten paroxysmaler Erscheinungen. Diese Effekte sind bei einer Vielzahl von Tieren unter CPZ-Einwirkung beschrieben worden (Gehrmann u. Killam, 1976; Babbini et al., 1975; Bonfitto et al., 1975; Sari et al., 1975) und stimmen gut mit denjenigen EEG-Mustern überein, welche beim Menschen unter Neuroleptikabehandlung gefunden wurden (Fink, 1969).

In der folgenden Versuchsserie sollten die Effekte einiger CPZ-Metaboliten untersucht und denen des CPZ gegenübergestellt werden. Es lag durchaus im Bereich des Möglichen, daß einige Metaboliten sich in ihren Wirkungen auf das EEG grundsätzlich von denen des CPZ unterscheiden, wie es am Beispiel des Imipramins und Desipramins eindrucksvoll am isolierten Gehirn gezeigt werden konnte (Rieger u. Krieglstein, 1974). Ähnlich dramatische Unterschiede konnten zwischen CPZ und seinen Metaboliten nicht nachgewiesen werden. Alle Pharmaka verursachten qualitativ gleichwertige Veränderungen, deren Ausmaße jedoch bei den verschiedenen Substanzen mehr oder weniger stark variierten. Die weitere Untersuchung der EEG-Effekte zeigte, daß die quantitative EEG-Analyse in der Lage war, diese z.T. geringfügigen Unterschiede aufzuzeigen. Die Kombination von Intervallhistographie mit Amplitudenhistographie ermöglichte es, für jedes Pharmakon ein differenziertes "EEG-Muster" zu erstellen. Solche "EEG-Muster" sind jedoch nur dann ausreichend charakteristisch für eine zentral wirksame Substanz, wenn die experimentellen Bedingungen der zu vergleichenden Pharmaka absolut identisch sind.

Am deutlichsten waren die durch die einzelnen Pharmaka verursachten EEG-Veränderungen zwischen 10 und 20 Minuten nach dem Beginn der Perfusion. Diese Tatsache wird verständlich, wenn man die Aufnahmegeschwindigkeit von Pharmaka mit unterschiedlichen physikalisch-chemischen Eigenschaften in das isolierte Gehirn betrachtet. Jähnchen und Krieglstein (1971) konnten am Beispiel des CPZ und seines NOR_1-CPZ-Metaboliten

zeigen, daß zwar die Aufnahme des hydrophileren Metaboliten ins isolierte Gehirn im Vergleich zum CPZ etwas langsamer vonstatten geht, daß aber nach einer Perfusionszeit von 10 - 15 Minuten die Konzentrationen beider Pharmaka annähernd gleich waren und sich danach nicht mehr wesentlich veränderten.

Messung der Standardamplitude sowie die Maße für Wölbung und Schiefe sind offenbar diejenigen Parameter, an denen die Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen am deutlichsten zu erkennen sind, während der Anteil der alpha-Frequenzen zur Differenzierung der Pharmaka nur wenig geeignet ist.

Das EEG unter CPZ-Behandlung unterschied sich statistisch signifikant in drei der insgesamt sieben EEG-Parameter von der Kontrolle, während sich in den Versuchen mit CPZ-NO sechs der sieben Parameter von der Kontrolle unterschieden. Unter NOR_1-CPZ war nur noch die Standardamplitude erhöht, unter NOR_2-CPZ war kein EEG-Parameter mehr von der Kontrolle verschieden (Tabelle 11).

Die mit Hilfe der quantitativen EEG-Analyse charakterisierten EEG-Veränderungen unter dem Einfluß der Pharmaka waren in guter Übereinstimmung mit den HVA-Veränderungen im Striatum. CPZ-NO beeinflußte diesen Parameter, welcher als ein Maß der neuroleptischen Wirksamkeit angesehen werden könnte, weitaus stärker als CPZ selbst, während die mono- und didesmethylierten Verbindungen kaum wirksam waren (Tabelle 7). Die insgesamt schwache Ausprägung des HVA-Anstiegs unter CPZ im Vergleich zu Literaturwerten (Lahti et al., 1972; Westering u.

Korf, 1975) mag zum einen auf die besonderen experimentellen Bedingungen des isolierten Gehirns zurückzuführen sein (unter Kontrollbedingungen ist HVA erhöht), zum anderen könnte es durch Mängel der analytischen Bestimmungsmethode bedingt sein (siehe 2.4.1.).

Es existieren in der Literatur einige Untersuchungen, welche belegen, daß neben CPZ auch einige seiner Metaboliten eine Wirkung auf den DA-Stoffwechsel besitzen. Dailey et al., (1972) konnten dies an Mäusen zeigen. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Nybäck u. Sedvall (1972), indem sie den DA-Umsatz mit Hilfe von C^{14}-markiertem Tyrosin unter dem Einfluß dieser Pharmaka bestimmten. Auch die in-vitro-Untersuchungen von Miller u. Iversen (1974) mit der durch DA aktivierbaren Adenylatcyclase aus dem Striatum der Ratte stimmen hiermit überein. Diese Autoren gelangten übereinstimmend zu der Auffassung, daß NOR_1-CPZ fast ebenso wirksam sei wie CPZ selbst, während NOR_2-CPZ und CPZ-NO wesentlich schwächer zu sein schienen.

Die mit Hilfe des isolierten Gehirns erhaltenen Ergebnisse stimmten mit diesen Befunden nur teilweise überein. Das hervorstechenste Ergebnis dieser Untersuchungen war zweifellos die starke ZNS-Wirksamkeit des CPZ-NO-Metaboliten. Es existiert bislang in der Literatur keine Untersuchung, welche belegt, daß irgendeiner der CPZ-Metaboliten größere Wirksamkeit besitzt als CPZ selbst. Der Grund dafür ist sicherlich darin zu suchen, daß derartige Untersuchungen am Ganztier durchgeführt wurden. Untersuchungen von Wiesel und Alfredsson (1976) zeigen sehr deutlich, in welchem Ausmaß CPZ-NO im intakten Organismus

in andere Verbindungen umgewandelt wird. Aus Untersuchungen von Bickel (1971) ist bekannt, daß neben dem großen Stoffwechselorgan Leber auch noch andere Gewebe des Organismus in der Lage sind, diese N-Oxid-Verbindungen zu verändern. Dies trifft insbesondere auch für die Bestandteile des Blutes zu (Minder et al., 1971; McMahum u. Sullivan, 1977).

Unter den experimentellen Bedingungen des isolierten Gehirns fanden wir, daß annähernd 1/3 des im Perfusionsmedium gelösten CPZ-NO metabolisiert wurde, vornehmlich zu CPZ (Tabelle 9). Es ist unwahrscheinlich, daß dieser CPZ-Anteil im Perfusionsmedium allein für die beobachteten Effekte verantwortlich ist. Die Möglichkeit, daß diese Veränderungen durch ein Zusammenwirken von CPZ-NO und CPZ zustande gekommen sind, kann jedoch nicht ausgeschlossen werden. Die hohe pharmakologische Aktivität des CPZ-NO im ZNS ist vor allem im Hinblick auf kürzliche Untersuchungen von Curry u. Evans (1976) interessant. In dieser Studie konnten während der Therapie mit CPZ am Menschen Plasmakonzentrationen an CPZ-NO gemessen werden, welche fast halb so groß waren wie die des CPZ selbst.

Unter CPZ-Behandlung war der HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne im Vergleich zu den Kontrollperfusionen ebenfalls erhöht, während unter NOR_1-CPZ und auch NOR_2-CPZ dieser Gehalt nur unwesentlich verändert war. Somit zeigten die desmethylierten Verbindungen weder deutliche EEG-Effekte noch Wirkung auf den DA-Stoffwechsel. Man könnte annehmen, daß diese Metaboliten keine zentralen Wirkungen besitzen. Die Messung der MOPEG-SO_4-Konzentration in den isolierten Gehirnen

machte aber deutlich, daß diese Verbindungen im Gegensatz zu CPZ und CPZ-NO den NA-Stoffwechsel beeinflussen (Tabelle 8). Unter den Bedingungen des isolierten Gehirns konnten unter NOR_1-CPZ als auch unter NOR_2-CPZ erniedrigte MOPEG-SO_4-Werte gemessen werden. Mit CPZ bzw. CPZ-NO perfundierte Gehirne zeigten dagegen eher eine Tendenz zu erhöhten MOPEG-SO_4-Werten. Auffallend war wiederum, daß in den perfundierten Kontrollgehirnen höhere MOPEG-SO_4-Werte gemessen wurden als in den Gehirnen der nicht perfundierten Tiere. Dasselbe war auch schon für den HVA-Gehalt im Striatum gezeigt worden, für andere Transmitter konnte dies am isolierten Gehirn ebenfalls nachgewiesen werden (Kilbinger u. Krieglstein, 1974; Krieglstein u. Niemeyer, 1974). Eine Erklärung für den erhöhten Transmitterumsatz unter der Perfusion könnte sein, daß die Tiere während der Perfusion oder auch schon während der Präparation einem erheblichen Streß ausgesetzt sind. Daß verschiedene Streßfaktoren den Umsatz Transmitter im Gehirn in starkem Maße beeinflussen, wurde in Untersuchungen von Walter u. Eccleston, (1972) und Bliss et al., (1968) gezeigt.

Es existieren in der Literatur eine große Anzahl Untersuchungen, die sich mit dem Einfluß tricyclischer Psychopharmaka auf den NA-Stoffwechsel im ZNS befassen (Nielsson, 1975; Scheel-Krüger et al., 1975; Schildkraut et al., 1976). In diesen Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß vornehmlich nach Behandlung mit Antidepressiva, welche eine sekundäre Aminstruktur aufweisen, der MOPEG-SO_4-Gehalt im Gehirn der Tiere vermindert war.

Überträgt man diese Literaturbefunde auf unsere am isolierten Gehirn gemachten Beobachtungen, so bedeutet das, daß die desmethylierten Metaboliten des Neuroleptikums CPZ antidepressive Eigenschaften besitzen. Zu ähnlichen Erkenntnissen gelangten ebenfalls Bickel u. Brodie (1964). In einer Testserie untersuchten diese Autoren eine große Anzahl psychoaktiver Substanzen, darunter auch verschiedene Neuroleptika, auf mögliche antidepressive Eigenschaften. Sie fanden zu ihrer Überraschung, daß z.B. auch die stark neuroleptisch wirksame Verbindung Triflupromazin antidepressive Eigenschaften annimmt, wenn man am tertiären Stickstoff eine Methylgruppe entfernt.

Die antidepressive Wirksamkeit des NOR_1-CPZ Metaboliten könnte für die pharmakologische Wirkung des CPZ durchaus relevant sein, zum einen, weil die während der CPZ-Behandlung meßbaren Plasmaspiegel dieses Metaboliten bei Mensch (Turano et al., 1972) und Tier (Alfredsson et al., 1976) sehr hoch sind, zum anderen, weil dieser Metabolit die Eigenschaft hat, sich im Verlaufe der Behandlung im Gehirn anzureichern (Wiesel u. Alfredsson, 1976; Kohl et al., 1963). Die tierexperimentellen Befunde sind u.a. auch vor dem Hintergrund kürzlicher Untersuchungen von Wode-Helgodt et al. (1976) interessant. Zwei Wochen nach CPZ-Behandlung wurden bei den Patienten neben einem Anstieg der HVA-Werte auch erniedrigte MOPEG-SO_4-Werte in der Cerebrospinalflüssigkeit gefunden.

Angesichts der erfolgreichen Charakterisierung der bisher untersuchten CPZ-Metaboliten (veränderte aliphatische Seitenkette) schien es interessant zu prüfen, welche Effekte andere

Metaboliten des CPZ (Veränderungen am Phenothiazinringsystem) am isolierten Gehirn hervorrufen. Zwar liegen über die Wirksamkeit dieser Metaboliten schon eine Reihe von Untersuchungen in vivo (Buckley et al., 1973; Manian et al., 1965) und in vitro (Palmer u. Manian; Palmer et al., 1976) vor, doch unter den definierten Bedingungen des isolierten Gehirns waren zusätzliche Informationen zu erwarten. Die verwendeten Konzentrationen der Pharmaka orientierten sich an denen der vorangegangenen Perfusionsserie. Aufgrund visueller EEG-Auswertung erwiesen sich die Metaboliten 7-OH-NOR_1-CPZ und 3,7-diOH-CPZ als nicht wirksam und mögliche Wirkungen auf den NA- und DA-Stoffwechsel wurden nicht weiter untersucht. Die fehlende Wirksamkeit dieser Metaboliten ist in Übereinstimmung mit den wenigen in-vivo-Untersuchungen (Nybäck et al., 1973). Sie stehen jedoch im Gegensatz zu in-vitro-Untersuchungen, in denen z.B. der Metabolit 3,7-diOH-CPZ stärkere Effekte hervorruft als CPZ (Creese et al., 1978). Die Diskrepanz der in-vivo- und in-vitro-Versuche liegt vielleicht darin begründet, daß diese Metaboliten aufgrund ihrer polaren Eigenschaften nur wenig in der Lage sind, die Blut-Hirn-Schranke zu überwinden und damit im ZNS nicht wirksam werden können. Die Versuche mit dem isolierten Gehirn, bei dem eine intakte Blut-Hirn-Schranke vorhanden ist, machten deutlich, daß diese beiden Substanzen keine Wirksamkeit in vivo besitzen.

Obwohl die Hirngängigkeit des 8-OH-CPZ-Metaboliten bewiesen ist (Manian et al., 1971; Maickel et al., 1974) zeigte dieser Metabolit am isolierten Gehirn kaum EEG-Effekte.

Lediglich in einem von vier Perfusionsversuchen waren sehr dezente EEG-Veränderungen erkennbar, so daß auch für diesen Metaboliten auf eine weitergehende Untersuchung verzichtet wurde. Die schwache Wirksamkeit des 8-OH-CPZ-Metaboliten war insofern verwunderlich, als sein in 7-Stellung hydroxyliertes Analoges im EEG deutliche Effekte hervorrief. Dieser Befund verdeutlichte nicht nur die außerordentlich hohe Spezifität der CPZ-Rezeptorbindungsstelle, sondern demonstrierte auch die gute Brauchbarkeit des isolierten Gehirns für derartige Fragestellungen.

In den nachfolgenden Perfusionsversuchen wurden die Effekte von 7-OH-CPZ und CPZ-SO auf das EEG quantitativ ausgewertet und mit denen des CPZ verglichen. Die Analyse ergab, daß unter der Behandlung mit CPZ fünf der sieben EEG-Parameter statistisch von der Kontrolle verschieden waren. Vergleicht man die EEG-Effekte des CPZ mit denen der vorherigen Perfusionsserie, so wird deutlich, daß die EEG-Wirkungen der Pharmaka am isolierten Gehirn gut reproduzierbar sind. Der Metabolit 7-OH-CPZ war ebenfalls wirksam, unterschied sich jedoch nur in einem EEG-Parameter von der Kontrolle. Die Wirkung des 7-OH-CPZ-Metaboliten auf das EEG war damit der des NOR_1-CPZ-Metaboliten vergleichbar. Unter CPZ-SO war keiner der EEG-Meßwerte verändert.

Die Ergebnisse der quantitativen EEG-Analyse waren wiederum in guter Übereinstimmung mit der Wirkung dieser Substanzen auf den HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne (Tabelle 15). Sowohl CPZ als auch 7-OH-CPZ verursachten eine Erhöhung des

HVA-Gehaltes in dieser Hirnstruktur, während CPZ-SO keine Veränderung hervorrief.

Die mit Hilfe des isolierten Gehirns getroffene Einschätzung der zentralen Wirksamkeit ist mit den existierenden Literaturbefunden weitgehend in Übereinstimmung. Obwohl etwas schwächer wirksam als CPZ, ist der Metabolit 7-OH-CPZ in der Lage, die durch Amphetamin an Ratten ausgelösten stereotypen Verhaltensweisen zu bessern (Lal u. Sourkes, 1972). Ebenso kann auch das durch Apomorphin ausgelöste Zwangsnagen durch 7-OH-CPZ unterdrückt werden (Bronough u. Goldstein, 1975). In einer Reihe weiterer pharmakologischer Tests zur Erfassung der neuroleptischen Aktivität war von den untersuchten mono- und dihydroxylierten CPZ-Metaboliten ebenfalls 7-OH-CPZ die weitaus wirksamste Verbindung (Barry et al., 1974; Manian et al., 1968; Meltzer et al., 1977). Diese Einschätzung wird durch in-vitro-Untersuchungen bestärkt, in denen sich übereinstimmend mit den in-vivo-Befunden 7-OH-CPZ als sehr wirksam herausgestellt hat, während alle anderen hydroxylierten Metaboliten wesentlich schwächer oder unwirksam sind (Yamamura, 1976). Die neuroleptische Aktivität ist deutlich reduziert oder verschwindet vollkommen, wenn das heterocyclische Schwefelatom oxydativ verändert wird. Diese Tatsache belegen vielfältige pharmakologische (Lal u. Sourkes, 1972) und elektrophysiologische Untersuchungen (Bunney u. Aghajanian, 1974) mit CPZ-SO.

Die erniedrigten MOPEG-SO_4-Werte unter NOR_1-CPZ und NOR_2-CPZ sowie die Tendenz zu leicht erhöhten Werten unter CPZ-

Behandlung waren Anlaß, in der folgenden Versuchsserie dieses Problem genauer zu untersuchen. Der Einfluß der Pharmaka auf diesen Parameter in verschiedenen Strukturen des isolierten Gehirns sollte zusätzliche Informationen bringen.

Aus den Ergebnissen der Tabelle 16 geht hervor, daß die Substanzen den MOPEG-SO_4-Gehalt in den einzelnen Arealen des Gehirns durchaus unterschiedlich beeinflussen. CPZ verursachte eine Erhöhung des MOPEG-SO_4-Gehaltes im Hypothalamus. Legt man den für Neuroleptika eingangs postulierten Mechanismus zugrunde, so bedeutet das, daß CPZ die NA-Rezeptoren in diesem Teil des Gehirns blockiert. Die unter CPZ-Behandlung zu beobachtende starke Sedation könnte auf diese Blockade zurückzuführen sein (Keller et al., 1973; Peroutka et al., 1976). Unter der Wirkung von 7-OH-CPZ war hingegen der MOPEG-SO_4-Gehalt in der Medulla oblongata erniedrigt. Bedenkt man, daß in diesem Abschnitt des Gehirns wichtige Kerngebiete des autonomen Nervensystems sowie das Brechzentrum liegen, so könnte das bedeuten, daß der Metabolit 7-OH-CPZ für einige der vegetativen Begleitwirkungen der CPZ-Behandlung verantwortlich wäre, zumal auch für diesen Metaboliten eine Anreicherung im Gehirn nachgewiesen werden konnte (Maickel et al., 1974; Manian et al., 1971). Seine zentralen Effekte könnten nach chronischer CPZ-Anwendung verstärkt in der Vordergrund treten.

In den Experimenten der 1. Perfusionsserie konnte gezeigt werden, daß der Metabolit CPZ-NO sehr starke zentrale Wirksamkeit besaß. EEG-Effekte als auch die Effekte auf den HVA-Gehalt im Stratum waren unter der Einwirkung von CPZ-NO aus-

geprägter als unter CPZ. Es wurde jedoch auch deutlich, daß dieser Metabolit im Perfusionsmedium in einem respektablen Ausmaß zersetzt wurde. Als Hauptzersetzungsprodukt entstand CPZ neben einer geringen Menge CPZ-SO (Tabelle 9). Somit konnte eine Beteiligung des CPZ an der Wirkung des CPZ-NO nicht vollständig ausgeschlossen werden. Da diese Reduktion mit hoher Wahrscheinlichkeit durch das Häm der Erythrozyten verursacht wird (Mitchard, 1971; McMahom u. Sullivan, 1977; Kato u. Sugiura, 1978), wurden die folgenden Versuche mit einem synthetischen, erythrozytenfreien Medium durchgeführt. Sie sollten zur Klärung folgender Fragen beitragen: Sind die starken zentralen Effekte des CPZ-NO mit diesem Perfusionsmedium zu reproduzieren? Gilt die verstärkte Wirksamkeit auch für N-Oxid-Metaboliten anderer tricyclischer Psychopharmaka? Zeigen unter diesen definierten Bedingungen CPZ und Imipramin unterschiedliche zentrale Effekte?

Es war zu erwarten, daß für die zu untersuchenden Pharmaka in diesem Perfusionsmedium andere pharmakokinetische Gesetzmäßigkeiten galten als im erythrozytenhaltigen Medium. Die ersten orientierenden Versuche mit verschiedenen CPZ-Konzentrationen bestätigten diese Vermutungen. Nach Perfusion der Gehirne mit 5 µM CPZ im Medium waren EEG-Effekte feststellbar, wie sie bei Versuchen mit erythrozytenhaltigem Perfusionsmedium erst bei Konzentrationen von 10 µM eintraten.

CPZ ist zu einem hohen Prozentsatz an Plasmaproteine und Erythrozyten gebunden (Jähnchen et al., 1971). Da in der synthetischen Emulsion sowohl Plasmaproteine als auch die Erythrozyten durch andere Stoffe ersetzt worden sind, ist der unge-

bundene und damit wirksame Anteil des Pharmakons möglicherweise erhöht. In den Fluorcarbon-Partikeln waren nach eigenen Untersuchungen bei einem pH von 7,4 weniger als 1 % des gelösten CPZ nachzuweisen.

Eine beschleunigte Aufnahme der Pharmaka ins Gehirn durch Veränderungen der Blut-Hirn-Schranke durch den Emulgator Pluronic ^{R} F 68 erscheint fraglich, da auch bei diesen Versuchen die ausgeprägtesten EEG-Veränderungen - ebenso wie bei den Versuchen mit erythrozytenhaltigem Medium - in der Zeit zwischen 10 und 20 Minuten nach Perfusionsbeginn auftraten. Die Betrachtung des weiteren Zeitverlaufs brachte wenig zusätzliche Informationen (Abbildung 19 und 20).

In Anbetracht der großen Oberfläche des Mediums und des hohen Sauerstoffpartialdruckes war zu erwarten, daß im Medium gelöstes CPZ in vermehrtem Ausmaße der Oxydation unterliegen würde. Die Vermutung wurde dann auch durch quantitative Messung der Pharmaka im Medium bestätigt. Der Anteil der SO-Verbindungen sowohl des CPZ als auch des CPZ-NO hatte sich nach Beendigung der jeweiligen Perfusionsversuche verdoppelt (Tabelle 21). Es konnten aber weder bei den CPZ-Versuchen die entsprechende N-Oxid-Verbindung noch bei den Versuchen mit CPZ-NO reduziertes CPZ nachgewiesen werden. Da am Schwefelatom oxydierte Phenothiazine sich als unwirksame Verbindungen herausgestellt hatten (s.o.), konnte man sicher sein, daß die beobachteten Effekte allein durch ihre Ausgangsverbindungen hervorgerufen worden waren. Imipramin als auch Imipramin-NO blieben unter den Bedingungen der Perfusion unver-

ändert, da diese Verbindungen keinen oxydierbaren Schwefel im Molekül aufzuweisen haben.

Die quantitative Auswertung der EEGs ergab, daß die unter CPZ aufgetretenen EEG-Effekte auch mit diesem synthetischen Perfusionsmedium reproduzierbar waren (Tabelle 23). Sowohl CPZ als auch CPZ-NO verursachten deutliche EEG-Veränderungen. CPZ-NO war etwas schwächer wirksam als in den vorangegangenen Experimenten gezeigt. Bezüglich der Beeinflussung des HVA-Gehaltes im Striatum hingegen war CPZ-NO stärker wirksam als CPZ, so daß nach diesen Versuchen die starke zentrale Wirkung des CPZ-NO-Metaboliten gesichert sein dürfte. Eine mögliche Reduktion des CPZ-NO nach Aufnahme in das ZNS ist unwahrscheinlich, da Minder et al. (1971) in in-vitro-Versuchen nachgewiesen haben, daß Hirngewebe nicht in der Lage ist, eine Reduktion des CPZ-NO durchzuführen.

Bei Perfusion der isolierten Gehirne mit IMI bzw. IMI-NO war mit Ausnahme des delta-Frequenzanteils unter IMI keiner der quantitativen EEG-Meßwerte signifikant verändert, wenngleich bei der visuellen Betrachtung der EEGs durchaus charakteristische Wellenformen zu erkennen waren (Abbildung 18). Aus den im Vergleich zu CPZ und CPZ-NO sehr niedrigen Werten der Wölbung und Schiefe wurde jedoch ersichtlich, daß unter dem Einfluß dieser Pharmaka die paroxysmalen EEG-Sensationen, welche unter den Perfusionsbedingungen für Neuroleptika charakteristisch waren, stark reduziert waren. Unter IMI-NO waren alle EEG-Effekte etwas schwächer ausgeprägt. Dieses ist weitgehend in Übereinstimmung mit tierexperimentellen

(Theobald et al., 1966) und klinischen Untersuchungen (Fourbye et al., 1964; Rapp et al., 1973), nach denen die antidepressive Wirkung des IMI-NO als ebenso stark eingeschätzt wird wie die des IMI. Während der Behandlung mit IMI-NO sollen jedoch die unerwünschten peripheren Wirkungen verringert sein (Denker und Bake, 1976).

Die Untersuchung von CPZ, CPZ-NO und IMI, IMI-NO mit Hilfe der quantitativen EEG-Meßwerte und zusätzlicher visueller EEG-Begutachtung allein gelang nur unzureichend. Das war nicht überraschend, da aus vielen experimentellen Untersuchungen hervorgeht, daß CPZ und IMI sehr ähnliche pharmakologische Wirkqualitäten aufweisen (Herr et al., 1961; Lapin, 1962; Halliwell et al., 1964; Kamija, 1967). Eine Unterscheidung war dennoch möglich, da die untersuchten Pharmaka das DA-System im Striatum in unterschiedlicher Weise beeinflußten. Im Gegensatz zu CPZ und CPZ-NO war unter der Einwirkung von IMI und IMI-NO der HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne unverändert, was ebenfalls mit den niedrigen EEG-Maßen der Schiefe und Wölbung korrelierbar war. Eine Differenzierung zwischen den Muttersubstanzen und ihren N-Oxid-Metaboliten war aufgrund dieser Effekte ebenfalls nicht zu erreichen.

Die fehlende Wirkung von IMI und IMI-NO auf den HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne ist in Übereinstimmung mit zahlreichen in-vivo-Untersuchungen. Nach akuter Verabreichung von IMI konnten ebenfalls keine Wirkungen auf den DA-Stoffwechsel im Gehirn festgestellt werden (Schubert et al., 1970; Sharman, 1966). In-vitro-Befunde mit der durch DA stimulier-

baren Adenylatcyclase sind hiermit ebenfalls in guter Übereinstimmung (Karobath, 1975).

Betrachtet man die EEG-Effekte und die entsprechenden Wirkungen auf den HVA-Gehalt im Striatum unter dem Einfluß der verschiedenen Pharmaka, so wird deutlich, daß zwischen diesen Effekten offenbar ein enger Zusammenhang besteht (Tabellen 10, 17, 25). Es können aufgrund der Korrelationen keine Aussagen darüber gemacht werden, ob und inwieweit einzelne EEG-Ereignisse auf Veränderungen der dopaminergen Transmission im Striatum hervorgerufen worden sind.

Es gibt jedoch in der Literatur einige Hinweise darauf, daß dopaminerge Neurone bei der Auslösung elektrokortikaler Phänomene maßgeblich beteiligt sind. In verschiedenen tierexperimentellen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, daß durch Erhöhung des endogenen DA-Gehaltes im Gehirn eine allgemeine Desynchronisation des EEG auszulösen war (Pirch u. Rech, 1968; Keane et al., 1976), während eine Erniedrigung des endogenen DA-Gehaltes eine Synchronisation zur Folge hatte (Džoljić et al., 1975; Florio u. Longo, 1971). Bei der Auslösung der elektrokortikalen Ereignisse scheint dem Nucleus caudatus eine gewisse Bedeutung zuzukommen. Applikation geringer Mengen DA bzw. Apomorphin in das Gebiet des Nucleus caudatus verursachte in verschiedenen Arealen des Kortex eine Desynchronisation des EEG, welches durch Haloperidol antagonisiert werden konnte (Gottschalk et al., 1977; Meldrum et al., 1975). Diese Fakten stimmen ebenfalls mit experimentellen Befunden der Epilepsieforschung überein. Blockade von

DA-Rezeptoren oder auch eine Verringerung des endogenen DA-Gehaltes im Gebiet des Nukleus caudatus verstärkt experimentell ausgelöste epileptische Phänomene (Hypersynchronisation), während Injektion von DA die Ausprägung dieser Sensationen stark vermindert (Stach u. Kacz, 1976; Smialowski, 1977).

Aus den Ergebnissen mit dem isolierten Gehirn geht hervor, daß unter der Wirkung der Pharmaka, welche eine starke Blockade dopaminerger Rezeptoren verursachen, besonders häufig paroxysmale EEG-Ereignisse mit deutlicher Frequenzverlangsamung zu beobachten sind (Synchronisation, Hypersynchronisation), während unter der Wirkung von Pharmaka, welche diese Rezeptoren nur in geringem Ausmaß oder gar nicht beeinflussen, solche Sensationen selten sind. Die EEG-Parameter, in welchen solche Paroxysmen besonders gut zum Ausdruck kommen (Standardamplitude, Wölbung), korrelieren demzufolge auch besonders gut mit den HVA-Werten in allen Perfusionsserien. Der Zusammenhang könnte dadurch erklärt werden, daß das isolierte Gehirn unter den Bedingungen der Perfusion verstärkt Krampfbereitschaft zeigt, welche durch die Pharmaka mehr oder weniger verstärkt wird. Je mehr DA-rezeptorblockierende Eigenschaften die untersuchten Pharmaka besaßen, desto mehr traten paroxysmale Ereignisse im EEG in den Vordergrund.

In dieser Arbeit konnte somit gezeigt werden, daß es mit Hilfe des isoliert perfundierten Rattenhirns möglich war, zentral wirksame Pharmaka zu charakterisieren und deren Wirkungen gegeneinander abzugrenzen. Dieses galt insbesondere

für solche Pharmaka, deren ZNS-Wirksamkeit infolge ihrer Labilität in biologischen Systemen mit den herkömmlichen pharmakologischen Methoden nicht bewiesen werden konnte. Die Ergebnisse zeigten, daß eine Reihe der Metaboliten des CPZ und anderer tricyclischer Psychopharmaka beträchtliche, mitunter sehr verschiedene zentrale Wirkungen besitzen. Es wird die Vermutung geäußert, daß einige dieser Mataboliten bei längerer therapeutischer Anwendung die Wirkungen der Muttersubstanz entscheidend mitbeeinflussen könnten.

5. Z U S A M M E N F A S S U N G

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob verschiedene Metaboliten des CPZ vergleichbare zentrale Wirkungen wie die Muttersubstanz hervorrufen können. Die Untersuchungen wurden am isoliert perfundierten Rattenhirn durchgeführt. EEG-Veränderungen unter dem Einfluß der Pharmaka wurden qualitativ und quantitativ ausgewertet. Der Einfluß der verschiedenen Pharmaka auf den Dopamin- bzw. Noradrenalin-Stoffwechsel wurde indirekt über die Messung der Abbauprodukte HVA und MOPEG-SO_4 gemessen.

CPZ und einige seiner Metaboliten (Veränderungen an der aliphatischen Seitenkette) verursachten in einer Konzentration von 10 μM qualitativ gleichwertige EEG-Veränderungen. Die quantitative Analyse ergab, daß die EEG-Parameter Standardamplitude sowie die Maße für Wölbung am besten geeignet waren, zwischen den Pharmaka zu differenzieren, während z.B. der alpha-Frequenzanteil zur Unterscheidung ungeeignet war. Unter der Einwirkung von CPZ waren drei der insgesamt sieben quantitativen EEG-Parameter von der Kontrolle verschieden, während bei Versuchen mit CPZ-NO sechs der sieben EEG-Parameter von der Kontrolle signifikant verändert waren. Bei Experimenten mit NOR_1-CPZ war nur noch die Standardamplitude erhöht, während bei den NOR_2-CPZ Versuchen kein Parameter mehr verändert war.

Die quantitativen EEG-Veränderungen unter dem Einfluß der Pharmaka waren in guter Übereinstimmung mit den HVA-Veränderun-

gen im Striatum der Gehirne. CPZ-NO beeinflußte den DA-Stoffwechsel weitaus stärker als CPZ selbst, während die mono- und didesmethylierten Metaboliten kaum wirksam waren. Die mit dem isolierten Gehirn erhaltenen Ergebnisse, insbesondere die starke ZNS-Wirksamkeit des CPZ-NO-Metaboliten, sind nur teilweise mit den existierenden Literaturbefunden in Einklang zu bringen. Der Grund dürfte darin zu suchen sein, daß alle bislang existierenden Untersuchungen am Ganztier durchgeführt wurden. Untersuchungen verschiedener Autoren belegen jedoch, daß CPZ-NO im intakten Organismus weitgehend in andere Verbindungen umgewandelt wird.

Im Gegensatz zu CPZ und CPZ-NO beeinflußten NOR_1-CPZ und NOR_2-CPZ den NA-Stoffwechsel. Sowohl unter NOR_1-CPZ als auch unter NOR_2-CPZ wurden erniedrigte MOPEG-SO_4-Werte gemessen. Aus vergleichbaren Experimenten mit tricyclischen Antidepressiva sekundärer und tertiärer Aminstruktur wurde auf eine mögliche antidepressive Wirksamkeit dieser Metaboliten geschlossen. Es ist denkbar, daß die antidepressive Wirkung der mono- und didesmethylierten Metaboliten für die pharmakologische Wirkung des CPZ relevant ist, weil die Plasmaspiegel dieser Metaboliten unter CPZ-Behandlung relativ hoch sind und zudem eine Anreicherung im Gehirn nachgewiesen ist.

Angesichts der Ergebnisse dieser Experimente schien es interessant, auch noch andere Metaboliten des CPZ (Veränderungen am Phenothiazinringsystem) zu untersuchen. In Voruntersuchungen zeigten die Metaboliten 3,7-diOH-CPZ und 7-OH-NOR_1-CPZ in einer Konzentration von 10 µM im Perfusionsmedium keine

Veränderungen im EEG. Bei der Perfusion mit 8-OH-CPZ im Medium waren ebenfalls keine oder allenfalls sehr dezente EEG-Effekte zu beobachten. Auf eine weitergehende Untersuchung dieser Metaboliten wurde daher verzichtet.

Die quantitative EEG-Auswertung der Versuche mit CPZ, 7-OH-CPZ und CPZ-SO zeigte, daß CPZ wiederum vier der sieben EEG-Parameter signifikant veränderte und belegt damit die gute Reproduzierbarkeit der Ergebnisse der vorhergehenden Versuchsserie. Der Metabolit 7-OH-CPZ war schwächer wirksam als CPZ und unterschied sich nur in einem EEG-Parameter signifikant von der Kontrolle, während CPZ-SO keinen dieser Parameter veränderte. Die EEG-Effekte waren wiederum in guter Übereinstimmung mit den Veränderungen im HVA-Gehalt im Striatum der isolierten Gehirne. Die Zunahme der HVA-Konzentration war nach CPZ stärker ausgeprägt als nach 7-OH-CPZ, während CPZ-SO keine Veränderungen hervorrief. Der MOPEG-SO_4-Gehalt in verschiedenen Strukturen des Gehirns wurde durch die Pharmaka unterschiedlich beeinflußt. CPZ verursachte eine Erhöhung des MOPEG-SO_4-Gehaltes im Hypothalamus, während 7-OH-CPZ eine Erniedrigung des MOPEG-SO_4-Gehaltes in der Medulla oblongata bewirkte. CPZ-SO war auch hier ohne Wirkung.

Das herausragendste Ergebnis der bisherigen Untersuchungen war zweifellos die starke zentrale Wirksamkeit des CPZ-NO-Metaboliten. Sowohl EEG-Effekte, als auch die Veränderungen im HVA-Gehalt des Striatum waren unter der Behandlung mit CPZ-NO ausgeprägter als unter CPZ. Die Untersuchung der Perfusionsmedien ergab jedoch eine starke Zersetzung der Substanz,

wobei als Zersetzungsprodukt hauptsächlich CPZ entstand. Somit konnte eine Beteiligung des CPZ an der Wirkung des CPZ-NO nicht ausgeschlossen werden. Die folgenden Versuche wurden deswegen mit einem erythrozytenfreien, synthetischen Perfusionsmedium durchgeführt. Untersucht wurden nochmals die Pharmaka CPZ und CPZ-NO sowie Imipramin und Imipramin-NO.

In Konzentrationen von 5 µM im Perfusionsmedium verursachten CPZ und CPZ-NO die bekannten EEG-Veränderungen. Unter CPZ-NO war der Einfluß auf alle EEG-Parameter jedoch schwächer ausgeprägt. Der HVA-Gehalt im Striatum wurde durch CPZ-NO hingegen stärker beeinflußt als durch CPZ. Eine Reduktion des CPZ-NO zu CPZ fand nicht statt, so daß nach diesen Experimenten die starke Wirksamkeit des CPZ-NO gesichert sein dürfte. Bei der Perfusion der isolierten Gehirne mit Imipramin und Imipramin-NO war außer einem Anstieg der delta-Frequenzen unter Imipramin kein EEG-Parameter signifikant verändert. Aus den im Vergleich zu CPZ und CPZ-NO niedrigen Werten der Standardamplitude, Schiefe und Wölbung wurde jedoch ersichtlich, daß unter dem Einfluß dieser Pharmaka die paroxysmalen EEG-Phänomene, welche unter Perfusionsbedingungen für Neuroleptika charakteristisch sind, stark eingeschränkt waren. Ebenfalls zeigen beide Pharmaka keinen Einfluß auf den HVA-Gehalt im Striatum. Die schwache Ausprägung der paroxysmalen EEG-Effekte sowie die fehlende Wirkung auf den DA-Stoffwechsel demonstrieren, daß diese Pharmaka auch unter den definierten Bedingungen des isolierten Gehirns das DA-Transmittersystem im Striatum nicht beeinflussen.

Betrachtet man die Ergebnisse aller Perfusionsversuche, so kann man feststellen, daß zwischen den EEG-Veränderungen und den Veränderungen im DA-Stoffwechsel im Striatum ein enger Zusammenhang besteht. Besonders deutlich kommt dieser Zusammenhang in den hohen Korrelationskoeffizienten für Standardamplitude, Wölbung und dem Anteil der beta- und delta-Frequenzen zum Ausdruck.

Die Ergebnisse dieser Arbeit unterstreichen die gute Verwendbarkeit des isolierten Gehirns zur Charakterisierung zentral wirksamer Pharmaka. Dies gilt insbesondere für solche Pharmaka, deren ZNS-Wirksamkeit infolge ihrer Labilität in biologischen Systemen mit den herkömmlichen pharmakologischen Methoden nicht bewiesen werden kann. Die Ergebnisse zeigen ferner, daß einige Metaboliten des CPZ beträchtliche, mitunter sehr verschiedene zentrale Wirkungen besitzen. Zwischen den durch die verschiedenen Pharmaka ausgelösten EEG-Effekten und den HVA-Veränderungen im Striatum besteht ein enger Zusammenhang.

6. L I T E R A T U R

Andeń, N.-E., Roos, B.-E., Werdinius, B.: On the occurrence of homovanillic acid in brain and cerebrospinal fluid and its determination by a fluorimetric method. Life Sci. 7, 448 - 458 (1963).

Andeń, N.-E., Carlsson, A., Häggendal, J.: Adrenergic mechanisms. Ann. Rev. Pharmacol. 9, 119 - 134 (1969).

Andeń, N.-E., Butcher, S.G., Corrodi, H., Fuxe, K., Ungerstedt, U.: Receptor activity and turnover of dopamine and noradrenaline after neuroleptics Europ. J. Pharmacol. 11, 303 - 314 (1970).

Andjus, R., Suhara, K., Sloviter, H.A.: An isolated, perfused rat brain preparation, its spontaneus and stimulated activity. J. appl. Physiol. 22, 1033 - 39 (1967).

Alfredsson, G., Wode-Helgodt, B., Sedvall, G.: A mass fragmentographic method for the determination of chlorpromazine and two of its active metabolites in human plasma and CSF. Psychopharmacology 48, 123 - 131 (1976).

Alfredsson, G., Wiesel, F.-E., Scett, P.: Levels of chlorpromazine and its active metabolites in rat brain and the relaticnship to central monoamine metabolism and prolactin secretion. Psychopharmacology 53, 13 - 18 (1977).

Babbini, M., Gaiardi, M., Bartoletti, M.: Relationship between the behavioral and electroencephalographic effects of chlorpromazine and fluphenazine in rats. Pharmacology 13, 520 - 535 (1975).

Barry III, H., Steenberg, M.L., Manian, A.A., Buckley, J.P.: Effects of chlorpromazine and three metabolites on behavioral responses in rats. Psychopharmacologia 34, 351 - 60 (1974).

Berridge, T.L., Sharman, D.F.: The effect of tranquillizing drugs on the concentration of the sulphate ester of 4-hydroxy-3-methoxyphenylethane-1,2-diol in rat brain. Brit. J. Pharmacol. 50, 156 - 159 (1974).

Bickel, M.H.: The pharmacology and biochemistry of N-oxides. Pharmacol. Rev. 21, 325 - 355 (1969).

Bickel, M.H.: Liver metabolic reactions: tertiary amine N-dealkylation, tertiary amine N-oxidation, N-oxide reduction, and N-oxide N-dealkylation. I. Tricyclic tertiary amine drugs. Arch. Biochem. Biophys. 148, 54 - 62 (1971)

Bickel, M.H., Brodie, B.B.: Structure and antidepressant activity of imipramine analogues. Int. J. Neuropharmacol. 3, 611 - 621 (1964).

Bliss, E.L., Ailion, J., Zwanziger, J.: Metabolism of norepinephrine, dopamine in rat brain with stress. J. Pharmacol. exp. Ther. 164, 122 - 134 (1968).

Bonfitto, M., Della Bella, D., Santini, V.: Study of the action of some centrally acting drugs on the EEG and on conditioned avoidance reflex in the rabbit. Arch. int. Pharmacodyn. 217, 131 - 139 (1975).

Bradley, P.B.: EEG correlates of drug effects. In: Animal behavior and drug action. Ciba foundation symposion 297, 119 - 133 (1964).

Bronaugh, R.L., Goldstein, M.: The effect of various chlorpromazine derivatives on the apomorphine-elicited inhibition of synaptosomal tyrosine hydroxylase activity. Psychopharmacol. Commun. 1, 201 - 208 (1975)

Brune, G.G., Kohl, H.H., Steiner, W.G., Himwich, H.E.: Relevance of the N,N-Dimethyl configuration to the pharmacological action of chlorpromazine. Biochem. Pharmacol. 12, 679 - 85 (1963).

Buckley, J.B., Steenberg, M.L., Barry III, H., Manian, A.A.: Pharmacology of mono- and disubstituted chlorpromazine metabolites. J. pharm. Sci. 62, 715 - 22 (1973).

Bunney, B.S., Aghajanian, G.K.: A comparison of the effects of chlorpromazine, 7-hydroxychlorpromazine and chlorpromazine sulfoxide on the activity of central dopaminergic neurons. Life Sci. 15, 309 - 318 (1974).

Carlsson, A.: Receptor-mediated control of dopamine metabolism. In: Modern Pharmacology-Toxicology, Vol. 3, Usdin, E., Bunney, W.E., eds., Seite 49 - 65. New York: Marcel Deccer, Inc. 1975.

Chan, T.L., Gershon, S.: Chlorpromazine metabolism in humans. Part 1. Mikrochim. Acta 3, 435 - 52 (1973).

Coccia, P.F., Westerfeld, W.W.: The metabolism of chlorpromazine by liver microsomal enzyme systems. J. Pharmacol. exp. Ther. 157, 446 - 58 (1967).

Cooper, T.B.: Plasma level monitoring of antipsychotic drugs. Clin. Pharmacokin. 3, 14 - 38 (1978).

Corrodi, H., Werdinius, B.: Oxidative conversion of homovanillic acid to a fluorescent compound. Acta Chem. scand. 19, 1854-58 (1965).

Creese, I., Manian, A.A., Prosser, T.D., Snyder, S.H.: ^{3}H-Haloperidol binding to dopamine receptors in rat corpus striatum: influence of chlorpromazine metabolites and derivatives. Europ. J. Pharmacol. 47, 291 - 96 (1978).

Curry, S.H., Marshall, J.H.L.: Plasma levels of chlorpromazine and some of its relatively non-polar metabolites in psychiatric patients. Life Sci. 7, 9 - 17 (1968).

Curry, S.H., Marshall, J.H.L., Davis, J.M., Janowsky, D.S.: Chlorpromazine plasma levels and effects. Arch. Gen. Psychiat. 22, 289 - 96 (1970).

Curry, S.H.: Chlorpromazine: Concentrations in plasma, excretion in urine and duration of effect. Proc. roy. Soc. Med. 64, 285 - 89 (1971).

Curry, S.H., Evans, S.: A note on the assay of chlorpromazine N-oxide and its sulfoxide in plasma and urine. J. Pharm. Pharmacol. 28, 467 - 68 (1976).

Dailey, J., Sedvall, G., Sjöquist, B.: Effect of chlorpromazine and some of its metabolites on the accumulation of homovanillic acid in brain of mice. J. Pharm. Pharmacol. 24, 580 - 81 (1974).

Dempsey, M.J.R., Morison, R.S.: Some afferent diencephalic pathways related to cortical potentials in the cat. Amer. J. Physiol. 131, 718 - 724 (1941).

Denker, S.J., Bake, B.: Investigation of the orthostatic reaction after intravenous administration of imipramine, chlorimipramine, and imipramine N-oxide. Acta psychiat. scand. 54, 74 - 78 (1976).

Dirks, B., Krieglstein, J., Lind, H.-H.: Fluorcarbon perfusion medium applied to the isolated perfused rat brain. Zur Publikation eingereicht 1979.

Džoljić, M.R., Bonta, I.L., Godschalk, M., Lagendijk, A., Steffanko, S.: EEG-Synchronizing effect of γ-hydroxybutyrate and 1-hydroxy-3-amino-pyrrolidone-2 (HA-966) in relation to dopaminergic brain function. Neuropharmacology 14, 591 - 99 (1975).

Faurbye, A., Jacobsen, O., Kristjansen, P., Munkvad, I.B.: Imipramine-N-oxide: Preliminary investigation of a new antidepressive drug. Amer. J. Psychiat. 120, 277 - 78 (1963).

Fink, M.: EEG and human psychopharmacology. Ann. Rev. Pharmacol. 9, 241 - 58 (1969).

Fleck, W., Krieglstein, J., Urban, W.: Zwei Apparaturen zur Perfusion des isolierten Rattenhirns. Arzneimittel-Forsch. 22, 1225 - 30 (1972).

Florio, V., Longo, V.G.: Neuroleptic drugs and central dopaminergic system. Neuropharmacology 10, 45 - 54 (1971).

Forrest, I.S., Usdin, E.: Phenothiazines with an aliphatic side chain. In: Psychotherapeutic drugs, Vol. 2, Part II Applications, Forrest, I.S., Usdin, E., eds., Seite 700 - 740. New York: Marcel Deccer, Inc. 1977.

Gehrmann, J.E., Killam, K.F.: Assessment of CNS drug activity in rhesus monkeys by analysis of the EEG. Fed. Proc. 35, 2258 - 63 (1976).

Gelbke, H.P., Grell, T.H., Schmidt, G.: Isolation of drugs from blood by column chromatography on amberlite XAD-2. Arch. Toxicol. 39, 211 - 217 (1978).

Glowinski, J., Iversen, L.L.: Regional studies of catecholamines in the rat brain - I. The disposition of [^{3}H]norepinephrine, [^{3}H]dopamine and [^{3}H]dopa in various regiones of the brain. J. Neurochem. 13, 655 - 69 (1966).

Godschalk, M., Džoljić, M.R., Bonta, I.L.: The role of dopaminergic systems in γ -hydroxybutyrate-induced elektrocorticogram hypersynchronisation in the rat. J. Pharm. Pharmacol. 29, 605 - 608 (1977).

Green, D.E., Forrest, I.S.: In vivo metabolism of chlorpromazine. Canad. Psychiat. Ass. J. 11, 299 - 302 (1966).

Halliwell, G., Quinton, R.M., Williams, F.E.: A comparison of imipramine, chlorpromazine and related drugs in various tests involving autonomic functions and antagonism of reserpine. Brit. J. Pharmacol. 23, 330 - 50 (1964).

Herr, F., Stewart, J., Charest, M.-P.: Tranquillizers and antidepressants: A pharmacological comparison. Arch. int. Pharmacodyn 134, 328 - 42 (1961).

Heikkila, R.E., Golgfinger, S.S., Orlansky, H.: The effect of various phenothiazines and tricyclic antidepressants on the accumulation and release of [^{3}H]norepinephrine and [^{3}H]hydroxy-tryptamine in slices of rat occipital cortex. Res. Commun. chem. Path. Pharmacol. 13, 237 - 50 (1976).

Jähnchen, E., Krieglstein, J.: Die Aufnahme von Promazin, Chlorpromazin und deren Desmethylmetaboliten in das isoliert perfundierte Rattenhirn. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 268, 300 - 309 (1971).

Jähnchen, E., Krieglstein, J., Kunkel, F., Samuelis, W.J., Wollert, U.: Die Bedeutung der Bindung von Pharmaka an Albumin und Erythrozyten eines Perfusionsmediums der isolierten Rattenleber. Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmak. 269, 67 - 84 (1971).

Karobath, M.E.: Tricyclic antidepressive drugs and dopamine-sensitive adenylate cyclase from rat brain striatum. Europ. J. Pharmacol. 30, 159 - 63 (1975).

Kato, R., Sigiura, M.: The reduction of tertiary amine N-oxides by hepatic microsomes and mitochondria. In: Biological oxidation of nitrogen, J.W. Gorrod, ed., Seite 461 - 70. Elsevier, North-Holland Biomedical Press, 1978.

Keane, P.E., Candy, J.M., Bradley, P.B.: The role of endogenous catecholamines in the regulation of electrocortical activity in the encephale isolé cat.Electroenceph. clin. Neurophysiol. 41, 561 - 70 (1976).

Keller, H.H., Bartholini, G., Pletscher, A.: Increase of 3-methoxy-4-hydroxyphenylethylene glycol in rat brain by neuroleptic drugs. Europ. J. Pharmacol. 23, 183 - 86 (1973).

Kelsey, M.I., Moscatelli, E.A.: Gas-liquid chromatographic analysis of phenolic and non-phenolic chlorpromazine metabolites in the urine of chronic schizophrenic patients. J. Chromatogr. 85, 65 - 74 (1973).

Kilbinger, H., Krieglstein, J.: Applicability of the isolated perfused rat brain for studying central cholinergic mechanisms. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 285, 407 - 411 (1974).

Kohl, H.H., Brune, G.G., Himwich, H.E.: A comparative study of chlorpromazine and its demethylated derivatives: Potency and tissue distribution. Biochem. Pharmacol. 13, 539 - 41 (1963).

Korf, J., Roos, B.E., Werdinius, B.: Fluorimetric determination of homovanillic acid in tissues, using anion exchange separation and mixed solvent elution. Acta Chem. scand. 25, 333 - 35 (1971).

Korf, J., Aghajanian, G.K., Roth, R.H.: Increased turnover of norepinephrine in rat cerebral cortex during stress: Role of the locus coeruleus. Neuropharmacology 12, 933 - 38 (1973).

Krieglstein, J., Stock, R.: The isolated perfused rat brain as a model for studying drugs acting on the CNS. Psychopharmacologia 35, 169 - 77 (1974).

Krieglstein, J., Stock, R.: Influence of therapeutic and toxic doses of neuroleptics and antidepressants on energy metabolism of the isolated perfused rat brain. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 279, 243 - 54 (1973).

Krieglstein, J., Niemeyer, D.H.: The isolated perfused rat brain as a model for brain monoamine research. J. Neurochem. 24, 829 - 31 (1975).

Lacoursiere, R.B., Spohn, H.E.: How long does chlorpromazine last? J. nerv. ment. Dis. 163, 267 - 75 (1976).

Lathi, R.A., McAllister, B., Wozniak, J.: Apomorphine antagonism of the elevation of homovanillic acid induced by antipsychotic drugs. Life Sci. 11, 605 - 13 (1972).

Lal, S., Sourkes, T.L.: Effect of various chlorpromazine metabolites on amphetamine-induced stereotyped behaviour in the rat. Europ. J. Pharmacol. 17, 283 - 86 (1972).

Lapin, I.P.: Qualitative and quantitative relationships between the effects of imipramine and chlorpromazine on amphetamine group toxity. Psychopharmacologia 3, 413 - 22 (1962).

Laverty, R., Sharman, D.F.: Modification by drugs of the metabolism of 3,4-dihydroxyphenylethylamine, noradrenaline and 5-hydroxytryptamine in the brain. Brit. J. Pharmacol. 24, 759 - 72 (1965).

Lippmann, W., Pugsley, T.A.: The effects of butaclamol hydrochloride, a new neuroleptic drug, on catecholamine turnover. Pharmacol. Res. Commun. 7, 371 - 85 (1975)

Mackay, A.V.P., Healey, A.F., Baker, J.: The relationship of plasma chlorpromazine to its 7-hydroxy and sulfoxide metabolites in a large population of chronic schizophrenics. Brit. J. clin. Pharmacol. 1, 425 - 30 (1974)

Maickel, R.P., Fedynskyj, N.M., Potter, W.Z., Manian, A.A.: Tissue localization of 7- and 8-hydroxychlorpromazines. Toxicol. appl. Pharmacol. 28, 8 - 17 (1974)

Manian, A.A., Efron, D.H., Goldberg, M.E.: A comparative pharmacological study of a series of monohydroxylated and methoxylated chlorpromazine derivatives. Life Sci. 4, 2425 - 38 (1965).

Manian, A.A., Watzman, N., Steenberg, M.L., Buckley, J.P.: A pharmacologic study of two bis - alkoxychlorpromazine derivatives. Life Sci. 7, 731 - 40 (1968).

Manian, A.A., Efron, D.H., Harris, S.R.: Appearance of monohydroxylated chlorpromazine metabolites in the central nervous system. Life Sci. 10, 679 - 84 (1971)

McMahon, R.E., Sullivan, H.R.: Reduction of levopropoxyphene N-oxide to propoxyphene by dogs in vivo and rat liver microsomal fraction in vitro. Xenobiotica 7, 377 - 82 (1977).

Meek, J.L., Neff, N.H.: Fluorimetric estimation of 4-hydroxy-3-methoxyphenylethylenglycol sulphate in brain. Brit. J. Pharmacol. 45, 435 - 41 (1972).

Meldrum, B.: Electrical recording of brain activity: The EEG and its value in assessing drug effects. In: Handbook of Psychopharmacology, Vol. 2, Iversen, L.L., Iversen, S.D., Snyder, S.H., eds., Seite 69 - 100. New York: Plenum Press 1975.

Meldrum, B., Anlezark, G., Trimble, M.: Drugs modifying activity and behaviour, the EEG and epilepsy in papio papio. Europ. J. Pharmacol. 32, 203 - 213 (1975).

Meltzer, H.Y., Fang, V.S., Simonovich, M., Paul, S.M.: Effect of metabolites of chlorpromazine on plasma prolactin levels in male rats. Europ. J. Pharmacol. 41, 431 - 36 (1977).

Miller, R.J., Iversen, L.L.: Effects of chlorpromazine and some of its metabolites on the dopamine sensitive adenylat-cyclase of rat brain striatum. J. Pharm. Pharmacol. 26, 142 - 44 (1974).

Minder, R., Schnetzer, F., Bickel, M.H.: Hepatic and extra-hepatic metabolism of the psychotropic drugs, chlorpromazine, imipramine, and imipramine N-oxide. Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 268, 334 - 47 (1971).

Mitchard, M: Bioreduction of organic nitrogen. Xenobiotica 1, 469 - 81 (1971).

Modestin, J., Petrin, A.: Beziehungen zwischen Plasmakonzentration und klinischer Wirkung von Neuroleptika und Antidepressiva. Int. J. clin. Pharmacol. 13, 11 - 21 (1976).

Murphy, G.F., Robinson, D., Sharman, D.F.: The effect of tropolone on the formation of 3,4-dihydroxyphenylacetic acid and 4-hydroxy-3-methoxyphenylacetic acid in the brain of mouse. Brit. J. Pharmacol. 36, 107 - 15 (1969).

Nagy, A.: The kinetics of imipramine-N-oxide in rats. Acta Pharmacol. Toxicol. 42, 68 - 72 (1978).

Nielsen, M.: The influence of desipramine and amitriptyline on the accumulation of [^{3}H]noradrenaline and its two major metabolites formed from [^{3}H]tyrosine in the rat brain. J. Pharm. Pharmacol. 27, 206 - 209 (1975).

Nose, T., Takemoto, H.: Effect of oxotremorine on homovanillic acid concentration in the striatum of the rat. Europ. J. Pharmacol. 25, 51 - 55 (1974).

Nose, T., Takemoto, H.: The effect of penfluridol and some psychotropic drugs on monoamine metabolism in central nervous system. Europ. J. Pharmacol. 31, 351 - 59 (1975).

Nybäck, H., Sedvall, G.: Effect of chlorpromazine and some of its metabolites on synthesis and turnover of catecholamines formed from ^{14}C-tyrosine in mouse brain. Psychopharmacologia 26, 155 - 160 (1972).

Nybäck, H., Wiesel, F.-A., Sedvall, G.: Receptor regulation of dopamine turnover. In: Frontiers in catecholamine research, Usdin, E., Snyder, S.H., eds., Seite 601 - 604. New York: Pergamon Press 1973.

Palmer, G.C., Manian, A.A.: Modification of the receptor component of adenylate cyclase in the rat brain by phenothiazine derivatives. Neuropharmacology 13, 851 - 66 (1974).

Palmer, G.C., Manian, A.A., Sanborn, C.R.: Effects of neuroleptic agents on cyclic GMP in rat cerebral cortex. Europ. J. Pharmacol. 38, 205 - 209 (1976).

Palmer, G.C., Manian, A.A.: Actions of phenothiazine analogues on dopamine-sensitive adenylate cyclase in neuronal and glial-enriched fractions from rat brain. Biochem. Pharmacol. 25, 63 - 71 (1976).

Peroutka, S.J., U'Prichard, D.C., Greenberg, D.A., Snyder, S.H.: Neuroleptic drug interactions with norepinephrine alpha receptor binding sites in rat brain. Neuropharmacology 16,549 - 56 (1977).

Pirch, J.H., Rech, R.H.: Effect of α-methyltyrosine on the electrocorticogram of unrestrained rats. Int. J. Neuropharmacol. 7, 315 - 23 (1968).

Posner, H.S., Hearst, E., Taylor, W.L., Cosmides, G.J.: Model metabolites of chlorpromazine and promazine: Relative activities in some pharmacological and behavioural tests. J. Pharmacol. exp. Ther. 137, 84 - 90 (1962).

Ragland, J.B., Kinross-Wright, V.J.: Spectrofluorometric measurement of phenothiazines. Analyt. Chem. 36, 1356 - 59 (1964).

Rapp, W., Norén, M.B., Pedersen, F.: Comparative trial of imipramine N-oxide and imipramine in the treatment of out-patients with depressive syndromes. Acta psychiat. scand. 49, 77 - 90 (1973).

Rieger, H., Krieglstein, J.: Quantitative analysis of the EEG effects produced by imipramine, desipramine, promazine, and monodesmethyl promazine in the isolated perfused rat brain. Psychopharmacologia 39, 163 - 79 (1974).

Ruch, W., Asper,H., Bürki, H.R.: Effect of clozapine on the metabolism of serotonin in rat brain. Psychopharmacologia 46, 103 - 109 (1976).

Sachs, L.: Angewandte Statistik. 4. Aufl. Berlin: Springer-Verlag 1974.

Sakalis, G., Curry, S.H., Mould, G.P., Lader, M.H.: Physiologic and clinical effects of chlorpromazine and their relationship to plasma level. Clin. Pharmacol. Ther. 13, 931 - 46 (1972).

Sakalis, G., Chan, T.L., Gershon, S., Park,S.: The possible role of metabolites in therapeutic response to chlorpromazine treatment. Psychopharmacologia 32, 279 - 84 (1973).

Saletu, B., Grünberger, J., Linzmayer, L.: Classification and determination of cerebral biovailability of psychotropic drugs by quantitative "pharmaco-EEG" and psychometric investigations (studies with AX-A411-BS). Int. J. clin. Pharmacol. 15, 449 - 59 (1977).

Saltzberg, B., Burch, N.R.: A new approach to signal analysis in electroencephalography. IRE Trans. med. Electron. 8, 24 - 30 (1957).

Sangiah, S., Domino, E.F.: In vitro studies of some chlorpromazine metabolites as potential N-methyltransferase inhibitors. Res. Commun. chem. Path. Pharmacol. 16, 389 - 92 (1977).

Sari, A., Fukuda, Y., Sakabe, T., Maekawa, T., Ishikawa, T.: Effects of psychotropic drugs on canine cerebral metabolism and circulation related to EEG - diazepam, clomipramine, and chlorpromazine. J. Neurol. Neurosurg. Psychiat. 38, 838 - 44 (1975).

Saunders, M.G.: Amplitude probability density studies on alpha and alpha-like patterns. Electroenceph. clin. Neurophysiol. 15, 761-67 (1963).

Schanberg, S.M., Schildkraut, J.J., Breese, G.R., Kopin, I.J.: Metabolism of normetanephrine-H^3 in rat brain -identification of conjugated 3-methoxy-4-hydrophenylglycol as the major metabolite. Biochem. Pharmacol. 17, 247 - 54 (1968).

Scheel-Krüger, J., Braestrup, C., Nielsen, M.: Feedback regulation of brain noradrenalin synthesis and release in vivo after treatment with amphetamines and tricyclic antidepressant drugs. In: Chemical tools in catecholamine research, Vol. II, Almgren, O., Carlsson, A., Engel, J., eds., Seite 227 - 34. North-Holland Publishing Company 1975.

Schildkraut, J.J.: The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. Amer. J. Psychiat. 122, 509 - 22 (1965).

Schildkraut, J.J., Roffman, M., Orsulak, P.J., Schatzberg, A.F., Kling, M.A., Reigle, Th.G.: Effects of short- and long-term administration of tricyclic antidepressants and lithium on norepinephrine turnover in brain. Pharmakopsychiat. Neuro-Psych. 9, 193 - 202 (1976).

Schubert, J., Nybäck, H., Sedvall, G.: Effect of antidepressant drugs on accumulation and disappearence of monoamines formed in vivo from labelled precursors in mouse brain. J. Pharm. Pharmacol. 22, 136 - 39 (1970).

Sedvall, G.: Rezeptor feedback and DA turnover in CNS. In: Handbook of Psychopharmacology, Vol. 6, Iversen, L.L., Iversen, S.D., Snyder, S.H., eds., Seite 127 - 178. New York: Plenum Press 1975.

Sharman, D.F.: Changes in the metabolism of 3,4-dihydroxyphenylethylamine (dopamine) in the striatum of the mouse induced by drugs. Brit. J. Pharmacol. Chemother. 28, 153 - 63 (1966).

Shigenori, K.: Comparative studies on the EEG effects of imipramine and chlorpromazine in the normal and reserpinized rabbits. Jap. J. Pharmacol. 17, 351 - 63 (1967).

Śmialowski, A.: The effect of apomorphine injection into caudate nucleus on electrical activity of some structures of the rabbit brain. Pol. J. Pharmacol. Pharm. 29, 461 - 67 (1977).

Snyder, S.H., Banerjee, S.P., Yamamura, H.I., Greenberg, D.: Drugs, neurotransmitters and schizophrenia. Science 184, 1243 - 53 (1974).

Stach, R., Kacz, D.: The effect on cortical mirror foci produced by ouabain of γ-aminobutyric acid, dopamine and haloperidol injected into the rabbit caudate nucleus. Pol. J. Pharmacol. Pharm. 28, 269 - 76 (1976).

Sulser, F., Sanders-Busch, E.: Effects of drugs on amines in the CNS. Pharmacol. Rev. 11, 209 - 30 (1971).

Theobald, W., Büch, O., Kunz, H.A., Morpurgo, C.: Zur Pharmakologie von Metaboliten des Imipramins. Med. Pharmacol. exp. 15, 187 - 97 (1966).

Turano, P., March, J.E., Turner, W.J., Merlis, S.: Qualitative and quantitative report on chlorpromazine and metabolites in plasma, erythrocytes and erythrocyte washings from chronically mediated schizophrenic patients. J. Med. 3, 109 - 120 (1972).

Walter, D.S., Eccleston, D.: The effect of electrical stimulation of the locus coeruleus on the endogenous concentration of 4-hydroxy-3-methoxyphenylethylene glycol in rat brain. Biochem. J. 128, 85p - 86p (1972).

Westering, B.H.C., Korf, J.: Determination of nanogram amounts of homovanillic acid in the central nervous system with a rapid semiautomated fluorimetric method. Biochem. Med. 12, 106 - 115 (1975).

Westering, B.H.C., Korf, J.: Influence of drugs on striatal and limbic homovanillic acid concentrations in the rat brain. Europ. J. Pharmacol. 33, 31 - 40 (1975).

Wiesel, F.-A., Fri, C.-G., Sedvall, G.: Determination of homovanillic acid turnover in rat striatum using a monoamine oxidase inhibitor. Europ. J. Pharmacol. 23, 104 - 106 (1973).

Wiesel, F.-A., Alfredsson, G.: The distribution and metabolism of chlorpromazine in rats and the relationship to effects on cerebral monoamine metabolism. Europ. J. Pharmacol. 40, 263 - 72 (1976).

Wode-Helgodt, B., Fyrö, B., Gullberg, B., Sedvall, G.: Effect of chlorpromazine treatment on monoamine metabolite levels in cerebrospinal fluid of psychotic patients. Acta psychiat. scand. 56, 129 - 42 (1977).

Yaar, I.: EEG power spectral changes secondary to L-DOPA treatment in parkinsonian patients: A pilot study, Electroenceph. clin. Neurophysiol. 43, 111 - 118 (1977).

Yamamura, H.I., Manian, A.A., Snyder, S.H.: Muscarinic cholinergic receptor binding: Influence of pimocide and chlorpromazine metabolites. Life Sci. 18, 685 - 92 (1976).

7. T A B E L L E N A N H A N G

Ad Tabelle 7 : HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne nach Perfusion mit CPZ und einigen seiner Metaboliten.

HVA-Konzentration in µg/g Striatum (Feuchtgewicht); Perfusionszeit: 30 min

Kontrolle (in vivo)		Kontrolle (perf.)		CPZ-NO	
Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA
1	0,194	134	0,431	175	0,500
2	0,206	169	0,263	161	0,380
3	0,303	152	0,469	168	0,375
4	0,312	142	0,469	139	0,739
5	0,262	157	0,178	155	0,474
6	0,239	133	0,466	178	0,651
7	0,263	165	0,335	166	0,602
8	0,226	153	0,219		
		159	0,280		
CPZ		NOR_1-CPZ		NOR_2-CPZ	
137	0,526	135	0,564	176	0,535
138	0,592	136	0,614	160	0,152
162	0,460	173	0,476	177	0,340
171	0,347	174	0,434	158	0,417
172	0,603	170	0,266	167	0,230
163	0,337	149	0,667	145	0,187
140	0,404	141	0,468	144	0,360
147	0,308	148	0,354		
146	0,493	151	0,262		

Ad Tabelle 8 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Metaboliten auf die MOPEG-SO_4-Konzentration in verschiedenen Strukturen des isolierten Gehirns.

MOPEG-SO_4-Konzentration in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht);
Perfusionszeit: 30 min

Kontrolle (in vivo)			Kontrolle (perfundiert)		
Vers.Nr.	Kortex	Resthirn	Vers.Nr.	Kortex	Resthirn
1	0,123	0,108	134	0,183	0,244
2	0,154	0,156	122	0,194	0,210
3	0,090	0,110	169	0,229	0,221
4	0,124	0,153	159	0,242	0,232
5	0,092	0,115	152	0,170	0,211
6	0,112	0,114	153	0,168	0,206
7	0,118	0,124	165	0,181	0,197
8	0,135	0,146	133	0,198	0,237
			157	0,183	0,154
			142	0,175	0,225
	CPZ-NO			CPZ	
175	0,158	0,201	137	0,214	0,231
161	0,238	0,216	138	0,143	0,198
168	0,198	0,170	171	0,152	0,167
139	0,195	0,210	162	0,189	0,202
155	0,190	0,196	172	0,193	0,236
166	0,189	0,214	163	0,218	0,261
178	0,143	0,163	140	0,213	0,217
			146	0,212	0,239
			147	0,208	0,263

	NOR_1-CPZ			NOR_2-CPZ	
Vers.Nr.	Kortex	Resthirn	Vers.Nr.	Kortex	Resthirn
125	0,190	0,164	176	0,155	0,169
136	-	-	160	0,172	0,225
135	0,155	0,140	177	0,130	0,145
173	0,157	-	158	0,196	0,204
174	0,149	0,208	167	0,165	0,176
170	0,198	0,167	145	0,152	0,155
149	0,182	0,209	144	0,197	0,203
141	0,191	0,170			
148	0,211	0,201			
151	0,175	0,203			

Ad Tabelle 9 : Konzentration von CPZ-NO und verschiedenen Metaboliten im Erythrozyten-Perfusionsmedium vor und nach Perfusion der isolierten Gehirne.

	Konzentration in nmol / 10 ml Albuminüberstand			
	zugesetzt	ohne Rezirkulation	nach 60 min Rezirkulation	nach 30 min Perfusion
CPZ-NO	100	35,6	34,7	30,5
	100	39,4	25,6	21,4
	100	45,2	40,1	41,1
	100	42,5	39,6	33,3
CPZ	-	16,9	10,7	8,6
	-	19,5	10,7	10,8
	-	22,2	18,5	16,7
	-	19,8	15,7	20,7
CPZ-SO	-	-	5,2	5,5
	-	-	3,5	7,4

Ad Tabelle 15 : HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne nach Perfusion mit CPZ und einigen seiner Ringmetaboliten.

HVA-Konzentration in µg/g Striatum (Feuchtgewicht); Perfusionszeit: 30 min

Kontrolle (in vivo)		Kontrolle (perf.)		CPZ	
Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA
1	0,318	203	0,361	202	0,491
2	0,452	214	0,362	216	0,537
3	0,265	220	0,271	223	0,725
4	0,347	231	0,394	226	0,667
5	0,267	236	0,460	247	0,594
6	0,371	239	0,411	248	0,614
7	0,334	246	0,434	251	0,436

7-OH-CPZ		CPZ-SO	
201	0,383	210	0,394
215	0,461	217	0,325
224	0,399	219	0,508
225	0,531	221	0,471
240	0,472	237	0,460
241	0,387	238	0,408
250	0,821	249	0,402

Ad Tabelle 16 : MOPEG-SO_4-Konzentrationen in verschiedenen Strukturen des isolierten Gehirns unter dem Einfluß von CPZ und einigen seiner Ringmetaboliten.

MOPEG-SO_4-Konzentration in µg/g Hirngewebe (Feuchtgewicht); Perfusionszeit: 30 min

Vers.Nr.	Medulla	Mittelhirn	Hypothalamus
	Kontrolle (in vivo)		
1	0,160	0,107	0,180
2	0,182	0,143	0,188
3	0,225	0,145	0,201
4	0,218	0,117	0,226
5	0,157	0,128	0,129
6	0,171	0,142	0,224
7	0,158	0,136	0,127
	Kontrolle (perfundiert)		
203	0,239	0,157	0,257
214	0,271	0,169	0,291
220	0,247	0,208	0,219
239	0,261	0,199	0,296
236	0,191	0,183	0,218
246	0,240	0,204	0,260
231	-	-	-

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 141

Vers.Nr.	Medulla	Mittelhirn	Hypothalamus
		CPZ	
202	0,188	0,196	0,328
216	0,189	0,174	0,381
223	0,239	0,170	0,322
226	0,236	0,204	0,307
247	0,232	0,182	0,260
248	0,229	0,183	0,335
251	0,209	0,178	0,258
		7-OH-CPZ	
201	0,190	0,198	0,284
215	0,257	0,182	0,285
224	0,208	0,171	0,315
225	0,189	0,201	0,362
240	0,184	0,161	0,254
241	-	0,255	0,297
250	0,166	0,143	0,250
		CPZ-SO	
210	0,236	0,182	0,189
217	0,205	0,184	0,241
219	0,187	0,180	0,269
221	0,207	0,167	0,226
237	0,211	0,192	0,323
238	0,201	0,172	0,298
249	0,258	0,166	0,327

Ad Tabelle 21 : Der Einfluß von CPZ, IMI und deren N-Oxid-Metaboliten auf die HVA-Konzentrationen im Striatum der isolierten Gehirne.

HVA-Konzentration in µg/g Striatum (Feuchtgewicht); Perfusionszeit: 60 min

Kontrolle (perf.)		CPZ		CPZ-NO	
Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA	Vers.Nr.	HVA
242	0,402	233	0,551	235	0,723
252	0,399	253	0,744	257	0,914
256	0,490	261	0,821	277	0,775
258	0,466	283	0,778	280	1,075
281	0,536	286	0,810	282	0,713
269	0,508	271	1,024	262	0,885
276	0,547	274	0,575	270	0,993

IMI		IMI-NO	
244	0,268	245	0,403
254	0,523	255	0,560
259	0,651	260	0,585
279	0,512	278	0,538
284	0,487	285	0,617
264	0,607	266	0,498
273	0,504	272	0,461

Ad Tabelle 23 : Konzentration von CPZ und CPZ-NO und deren Oxydationsprodukten im Fluorcarbon-Perfusionsmedium vor und nach Perfusion der isolierten Gehirne.

	Konzentration in nmol / 20 ml Medium			
	zugesetzt	ohne Rezirkulation	nach 60 min Rezirkulation	nach 30 min Perfusion
CPZ	200	141	86	49
	-	139	88	61
	-	-	75	58
	-	-	102	62
CPZ-SO	-	23	38	34
	-	16	42	34
	-	-	21	55
	-	-	36	53
CPZ-NO	200	184	162	142
	-	178	188	136
	-	-	124	102
	-	-	116	103
CPZ-NO-SO	-	46	55	72
	-	44	47	58
	-	-	83	88
	-	-	72	106

Ad Abbildung 9 u. 10 : Der Einfluß von CPZ und Seitenkettenmetaboliten auf die Frequenzanteile des EEG (Gruppenmittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min
	beta-Frequenzanteil		
Kontrolle	60,11 ± 2,43	61,66 ± 2,03	55,85 ± 2,08
CPZ	50,95 ± 1,26	50,99 ± 1,62	47,92 ± 1,90
CPZ-NO	50,91 ± 3,01	47,78 ± 3,13	43,34 ± 2,54
NOR_1-CPZ	55,09 ± 3,64	55,86 ± 3,27	53,55 ± 2,93
NOR_2-CPZ	59,50 ± 1,56	62,56 ± 1,46	61,14 ± 2,69
	alpha-Frequenzanteil		
Kontrolle	25,36 ± 0,53	25,53 ± 1,16	27,52 ± 1,37
CPZ	26,83 ± 0,56	25,63 ± 0,95	26,84 ± 0,63
CPZ-NO	26,01 ± 1,08	25,61 ± 1,35	26,22 ± 1,61
NOR_1-CPZ	26,40 ± 0,94	25,33 ± 1,09	26,03 ± 1,11
NOR_2-CPZ	26,72 ± 0,82	25,39 ± 0,58	25,63 ± 0,99

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 145

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min
	theta-Frequenzanteil		
Kontrolle	12,96 ± 1,84	11,35 ± 1,28	14,19 ± 1,95
CPZ	18,20 ± 1,41	17,83 ± 1,69	18,45 ± 1,09
CPZ-NO	18,03 ± 1,54	19,75 ± 1,82	21,54 ± 1,93
NOR_1-CPZ	15,17 ± 2,39	14,99 ± 2,31	16,25 ± 1,62
NOR_2-CPZ	12,72 ± 1,46	10,78 ± 0,92	11,48 ± 1,74
	delta-Frequenzanteil		
Kontrolle	1,57 ± 0,48	1,45 ± 0,47	2,43 ± 0,69
CPZ	4,02 ± 0,75	5,55 ± 0,63	6,78 ± 1,08
CPZ-NO	5,04 ± 2,12	6,85 ± 1,73	8,89 ± 1,94
NOR_1-CPZ	3,32 ± 1,10	3,82 ± 1,33	4,13 ± 1,15
NOR_2-CPZ	1,02 ± 0,30	1,27 ± 0,63	1,74 ± 1,11

Ad Abbildung 14 u. 15 : Die Wirkung von CPZ und Ringmetaboliten auf Frequenzanteile des EEG (Gruppenmittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min
	beta-Frequenzanteil		
Kontrolle	71,13 ± 3,16	69,74 ± 2,86	68,57 ± 2,57
CPZ	52,92 ± 2,51	47,97 ± 3,73	44,89 ± 3,61
7-OH-CPZ	54,56 ± 3,88	54,98 ± 3,34	54,82 ± 3,99
CPZ-SO	69,73 ± 4,21	65,62 ± 4,44	64,83 ± 3,56
	alpha-Frequenzanteil		
Kontrolle	20,15 ± 1,10	21,42 ± 1,14	20,71 ± 0,74
CPZ	22,75 ± 0,85	22,03 ± 0,64	20,93 ± 0,30
7-OH-CPZ	23,94 ± 1,13	22,93 ± 0,60	20,67 ± 0,72
CPZ-SO	19,76 ± 1,45	21,10 ± 1,10	21,90 ± 0,91

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 147

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min
	theta-Frequenzanteil		
Kontrolle	8,43 ± 1,97	8,52 ± 1,63	10,38 ± 1,77
CPZ	22,03 ± 1,86	25,80 ± 2,64	27,56 ± 2,04
7-OH-CPZ	19,98 ± 2,89	20,05 ± 2,48	21,35 ± 3,10
CPZ-SO	10,04 ± 2,58	12,70 ± 3,32	12,53 ± 2,80
	delta-Frequenzanteil		
Kontrolle	0,29 ± 0,18	0,32 ± 0,21	0,34 ± 0,20
CPZ	2,30 ± 0,36	4,19 ± 1,13	6,62 ± 1,81
7-OH-CPZ	1,51 ± 0,43	2,07 ± 0,82	3,16 ± 1,11
CPZ-SO	0,46 ± 0,36	0,57 ± 0,41	0,74 ± 0,34

Ad Abbildung 16 u. 17 : Der Einfluß von CPZ und einigen seiner Ringmetaboliten auf verschiedene Meßwerte des Amplitudenhistogramms (Gruppenmittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min
	Standardamplitude		
Kontrolle	39,8 ± 0,8	38,3 ± 1,3	38,8 ± 2,4
CPZ	91,0 ± 8,2	93,5 ± 9,8	95,5 ± 12,1
7-OH-CPZ	62,1 ± 4,5	61,8 ± 5,6	57,8 ± 4,1
CPZ-SO	42,9 ± 3,9	45,0 ± 3,8	49,8 ± 5,2
	Schiefe		
Kontrolle	0,131 ± 0,056	0,099 ± 0,068	0,101 ± 0,025
CPZ	0,488 ± 0,059	0,259 ± 0,071	0,248 ± 0,081
7-OH-CPZ	0,130 ± 0,031	0,139 ± 0,046	0,154 ± 0,081
CPZ-SO	0,126 ± 0,047	0,304 ± 0,121	0,279 ± 0,091
	Wölbung		
Kontrolle	0,512 ± 0,137	0,476 ± 0,242	0,441 ± 0,105
CPZ	3,108 ± 0,265	1,937 ± 0,339	1,832 ± 0,404
7-OH-CPZ	0,728 ± 0,159	0,903 ± 0,222	0,979 ± 0,528
CPZ-SO	0,813 ± 0,471	2,651 ± 1,558	2,443 ± 1,063

Ad Abbildung 19 u. 20 : Der Einfluß von CPZ, IMI und deren N-Oxid-Metaboliten auf die Frequenzanteile des EEG (Gruppenmittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min	60 min
	beta-Frequenzanteil			
Kontrolle	73,17 ± 2,57	69,70 ± 1,66	66,91 ± 1,80	57,90 ± 2,39
CPZ	55,21 ± 2,63	52,28 ± 2,66	51,03 ± 2,38	46,33 ± 1,81
CPZ-NO	60,34 ± 3,81	57,03 ± 3,29	53,82 ± 3,68	46,93 ± 2,35
IMI	65,37 ± 3,63	61,43 ± 3,24	57,12 ± 3,15	49,56 ± 3,12
IMI-NO	66,57 ± 2,46	59,83 ± 2,92	55,33 ± 4,22	48,75 ± 4,45
	alpha-Frequenzanteil			
Kontrolle	18,03 ± 1,47	20,10 ± 1,66	21,16 ± 1,50	25,47 ± 2,02
CPZ	21,82 ± 0,64	20,89 ± 0,72	21,61 ± 0,95	22,09 ± 0,81
CPZ-NO	18,77 ± 0,93	20,36 ± 0,83	21,50 ± 0,96	22,88 ± 1,14
IMI	18,08 ± 1,05	18,52 ± 0,82	19,75 ± 0,76	20,32 ± 0,71
IMI-NO	18,86 ± 1,09	20,02 ± 0,58	20,98 ± 0,99	21,65 ± 1,11

Fortsetzung der Tabelle auf Seite 150

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min	60 min
	theta-Frequenzanteil			
Kontrolle	8,62 ± 1,37	9,78 ± 1,02	11,14 ± 1,16	15,46 ± 1,63
CPZ	19,98 ± 1,81	23,03 ± 2,04	23,40 ± 1,88	25,96 ± 1,76
CPZ-NO	19,11 ± 2,75	19,96 ± 2,22	21,43 ± 2,77	25,12 ± 1,99
IMI	14,10 ± 2,05	16,57 ± 2,16	18,33 ± 2,31	22,64 ± 2,09
IMI-NO	13,41 ± 1,57	18,20 ± 2,12	20,54 ± 3,06	23,83 ± 3,15
	delta-Frequenzanteil			
Kontrolle	0,17 ± 0,03	0,42 ± 0,11	0,80 ± 0,19	1,17 ± 0,45
CPZ	2,99 ± 0,79	3,80 ± 0,87	3,96 ± 0,90	5,63 ± 0,66
CPZ-NO	1,77 ± 0,48	2,64 ± 0,97	3,25 ± 1,08	5,08 ± 1,08
IMI	2,45 ± 1,13	3,49 ± 1,15	4,79 ± 0,99	7,49 ± 1,14
IMI-NO	1,15 ± 0,51	1,95 ± 0,57	3,14 ± 0,98	5,78 ± 1,83

Ad Abbildung 21 u. 22 : Einfluß von CPZ, IMI und deren N-Oxid-Metaboliten auf verschiedene Meßwerte des Amplitudenhistogramms (Gruppenmittelwerte $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$)

Pharmakon	Perfusionszeit: 10 min	20 min	30 min	60 min
		Standardamplitude		
Kontrolle	40,6 ± 1,2	43,6 ± 1,9	46,9 ± 2,7	60,2 ± 2,2
CPZ	71,0 ± 4,4	79,0 ± 7,5	80,5 ± 6,7	77,8 ± 5,7
CPZ-NO	61,6 ± 4,4	70,1 ± 5,8	70,0 ± 4,3	78,3 ± 6,0
IMI	57,2 ± 5,6	58,5 ± 4,6	69,0 ± 6,1	80,5 ± 5,7
IMI-NO	54,6 ± 2,5	60,6 ± 4,1	73,8 ± 6,7	86,2 ± 6,8
		Schiefe		
Kontrolle	0,059±0,017	0,078±0,021	0,033±0,015	0,064±0,015
CPZ	0,324±0,110	0,355±0,188	0,313±0,083	0,172±0,042
CPZ-NO	0,382±0,136	0,349±0,090	0,362±0,109	0,192±0,083
IMI	0,191±0,110	0,115±0,037	0,136±0,045	0,291±0,086
IMI-NO	0,073±0,030	0,146±0,033	0,096±0,031	0,103±0,029
		Wölbung		
Kontrolle	0,145±0,050	0,238±0,078	0,166±0,110	0,174±0,121
CPZ	3,489±0,814	2,339±0,825	1,317±0,257	0,667±0,236
CPZ-NO	2,609±0,864	2,082±0,505	2,518±0,803	1,094±0,758
IMI	0,985±0,404	0,560±0,179	2,106±1,037	1,101±0,367
IMI-NO	0,489±0,113	0,301±0,084	0,535±0,130	0,381±0,113

8. L E B E N S L A U F

1947	Geboren am 5. Juni in Lübeck-Travemünde als drittes Kind der Eheleute Artur und Erna Schütz.
1954 - 1958	Besuch der Volksschule in Travemünde
1958 - 1966	Besuch des Katharineums in Lübeck
1967 - 1968	Wehrdienst bei der Bundeswehr
1969 - 1971	Praktikantenzeit in der St.-Jakobi-Apotheke in Lübeck
1971	Pharmazeutische Vorprüfung am 11. März
SS 1971 - SS 1974	Studium der Pharmazie an der Philipps-Universität Marburg
1974	Pharmazeutisches Staatsexamen am 10. Juni
	Erteilung der Approbation am 21. Juli
WS 1974/75	Ergänzungsstudium Pharmazie
1974 - 1979	Dissertation am Institut für Pharmakologie und Toxikologie im Fachbereich Pharmazie und Lebensmittelchemie unter der Leitung von Prof. Dr. Dr. Krieglstein
1975	Seit dem 2. Oktober wissenschaftlicher Angestellter am Institut für Pharmakologie und Toxikologie
1976	Vermählung mit der Krankenschwester Rita Heilkenbrinker am 10. September
1978	Geburt unserer Tochter Wiebke am 1. Februar